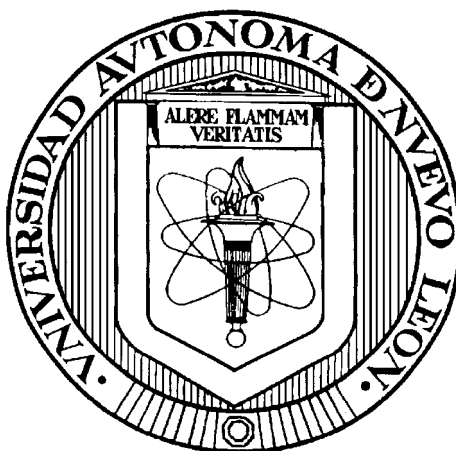


UNIVERSIDAD AUTONOMA DE NUEVO LEON

FACULTAD DE MEDICINA



**“EXPRESIÓN DE APE-1/REF-1 EN TUMORES DE CÉLULAS GERMINALES
TESTICULARES Y NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS
GERMINALES”**

Por

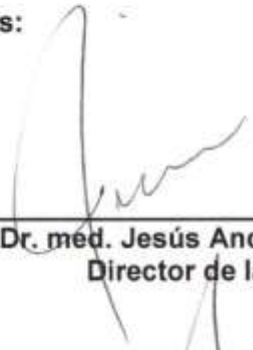
DR. ABELARDO LOYA SOLIS

**COMO REQUISITO PARCIAL PARA OBTENER EL GRADO DE
ESPECIALISTA EN ANATOMÍA PATOLÓGICA**

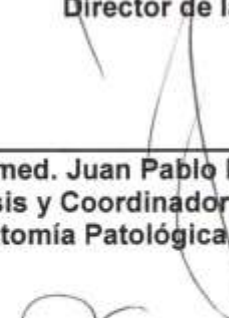
FEBRERO, 2015

**EXPRESIÓN DE APE1/REF-1 EN TUMORES DE CÉLULAS GERMINALES
TESTICULARES Y NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS
GERMINALES**


Aprobación de la tesis:




Dr. med. Jesús Ancer Rodríguez
Director de la Tesis



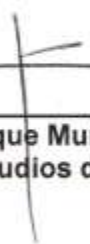
Dr. med. Juan Pablo Flores Gutiérrez
Co-Director de la Tesis y Coordinador de Investigación del Servicio de
Anatomía Patológica y Citopatología



Dra. med. Raquel Garza Guajardo
Coordinadora de Enseñanza del Servicio de Anatomía Patológica y
Citopatología



Dra. med. Oralia Barboza Quintana
Jefa del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología



Dr. med Gerardo Enrique Muñoz Maldonado
Subdirector de Estudios de Posgrado

AGRADECIMIENTOS

A mis padres, Abelardo y Lilia Elvira, cuyo apoyo a lo largo de toda mi vida ha sido el principal estímulo para superarme a pesar de los obstáculos.

A mi pareja, Celina, pues su paciencia y comprensión han sido mi principal apoyo a lo largo de estos últimos años.

A mis maestras la Dra. Oralia Barboza Quintana y la Dra. Raquel Garza Guajardo quienes me brindaron la oportunidad y el privilegio de formar parte de esta institución y de quienes siempre recibí apoyo incondicional para lograr mis metas.

Al Dr. Juan Pablo Flores Gutiérrez y al Dr. JesusAncer Rodríguez por compartir su tiempo, conocimientos y sabiduría en la realización de este proyecto.

Al Dr. Marco Antonio Ponce Camacho, a la Dra. Gabriela Alarcón Galván y a la Dra. Ivett Miranda Maldonado quienes además de compartirme enseñanzas y conocimientos como maestros, me compartieron tiempo y consejos como amigos y contribuyeron así en mi desarrollo, no solo como profesional, sino como persona.

A mis compañeros residentes y a todo el personal del departamento quienes han sido mi familia fuera de casa y de quienes me llevo los mejores recuerdos.

TABLA DE CONTENIDO

Capítulo I

1. RESUMEN.....	1
-----------------	---

Capítulo II

2.INTRODUCCIÓN.....	2
2.1 Cáncer testicular.....	2
2.2 Clasificación de los tumores testiculares.....	2
2.3 Estadificación del cáncer testicular.....	4
2.4 Epidemiología.....	9
2.5 Neoplasia intratubular de células germinales.....	9
2.6 Tumores germinales.....	10
2.6.1 Seminoma.....	11
2.6.2 Carcinoma embrionario.....	13
2.6.3 Tumor de senos endodérmicos.....	15
2.6.4 Coriocarcinoma.....	18
2.6.5 Teratoma.....	19
2.7 Endonucleasaapurínica/apirimidínica 1.....	21

Capítulo III

3. HIPÓTESIS.....	25
3.1 Hipótesis nula.....	25

Capítulo IV

4. JUSTIFICACIÓN.....	26
-----------------------	----

Capítulo V

5. OBJETIVO.....	27
------------------	----

Capítulo VI

6.MATERIAL Y MÉTODOS.....	28
6.1 Criterios de inclusión.....	28
6.2 Criterios de exclusión.....	28
6.3 Recolección de datos clínicos.....	29
6.4 Selección del material.....	29
6.5 Inmunohistoquímica.....	30
6.6 Evaluación de los resultados.....	31
6.7 Análisis estadístico.....	31

Capítulo VII

7.RESULTADOS.....	32
-------------------	----

Capítulo VIII

8. DISCUSIÓN.....	45
-------------------	----

Capítulo IX

9. CONCLUSIÓN.....	48
--------------------	----

Capítulo X

10. BIBLIOGRAFÍA.....	50
-----------------------	----

Capítulo XI

11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO.....	55
---------------------------------	----

ÍNDICE DE TABLAS

Tabla

1. Estadificación de tumores primarios en cáncer testicular.....	5
2. Estadificación de ganglios linfáticos regionales en cáncer testicular.....	6
3. Estadificación de metástasis a distancia en cáncer testicular.....	7
4. Marcadores séricos para estadificación.....	7
5. Grupos pronósticos en cáncer testicular.....	8
6. Características clinicopatológicas de los casos.....	33
7. Expresión de APE-1 en Neoplasia intratubular de células germinales.....	36
8. Expresión de APE-1 en Seminoma.....	37
9. Expresión de APE-1 en Carcinoma embrionario.....	38
10. Expresión de APE-1 en Tumor de senos endodérmicos.....	40
11. Expresión de APE-1 en Teratoma.....	41
12. Expresión de APE-1 en Coriocarcinoma.....	42
13. Relación entre expresión de APE-1 y los diversos componentes tumorales.....	43
14. Relación entre expresión de APE-1 en el componente predominante y estadio clínico.....	44
15. Relación entre expresión de APE-1 y tamaño tumoral.....	44

INDICE DE FIGURAS

Figura

1. Microfotografía de Neoplasia intratubular de células germinales.....	9
2. Microfotografía de Seminoma.....	11
3. Microfotografía de Carcinoma embrionario.....	13
4. Microfotografía de Tumor de senos endodérmicos.....	15
5. Microfotografía de Coriocarcinoma.....	18
6. Microfotografía de Teratoma.....	19
7. Fotografía de bloque de parafina, laminilla teñida con técnica de hematoxilina y eosina y laminilla teñida con inmunotinción con anticuerpo Anti-APE-1.....	29
8. Distribución por grupos de edad de los tumores de células germinales.....	33
9. Distribución por frecuencia y tipo de los 109 tumores de células germinales.....	34
10. Microfotografía de inmunotinción Anti-APE-1 en Neoplasia intratubular de células germinales.....	34
11. Microfotografía de inmunotinción Anti-APE-1 en Seminoma.....	35
12. Microfotografía de inmunotinción Anti-APE-1 en Carcinoma embrionario.....	37
13. Microfotografía de inmunotinción Anti-APE-1 en Tumor de Senos endodérmicos.....	38
14. Microfotografía de inmunotinción Anti-APE-1 en Teratoma.....	39
15. Microfotografía de inmunotinción Anti-APE-1 en Coriocarcinoma.....	40

LISTA DE ABREVIATURAS

- ADN:** Ácido desoxirribonucleico
- AFP:** Alfa Fetoproteína
- APE-1:** Endonucleasaapurínica/apurimidínica
- cm:** Centímetros
- DAB:** Diamino-benzidina
- EMA:**Antígeno de membrana epitelial
- GCH:** Gonadotrofina coriónica humana
- LDH:** Lactato deshidrogenasa
- M:**Metástasis
- mIU/ml:** Mili unidades internacionales por mililitro
- mm:** Milímetros
- µm:** Micrómetros
- ng/ml:** Nanogramos por mililitro
- N:** Gánglios linfáticos regionales
- NITG:** Neoplasia intratubular de células germinales
- PLAP:** Fosfatasa alcalina placentaria
- S:** Marcadores tumorales
- T:** Tumor
- TCGM:** Tumor de células germinales mixto
- TMZ:** Temozolamida

CAPÍTULO I

1. RESUMEN

Abelardo Loya Solis

Fecha de Graduación: Febrero, 2015

Universidad Autónoma de Nuevo León

Facultad de Medicina

**Título del Estudio: EXPRESIÓN DE APE1/REF-1 EN TUMORES DE
CÉLULAS GERMINALES TESTICULARES Y
NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CÉLULAS
GERMINALES**

Número de páginas: 55

**Candidato para obtener el grado de
especialista en Anatomía Patológica**

Área de Estudio: Anatomía Patológica

Propósito y Método de Estudio: Los tumores de células germinales son las neoplasias testiculares más frecuentes. La gran mayoría de los pacientes se presenta en estadios clínicos tempranos. Hasta un 20% de los pacientes en estadios tempranos presenta resistencia a tratamiento y recurrencia. El APE-1 es una proteína fundamental en la reparación del ADN dañado por agentes alquilantes cuya expresión se ha encontrado asociada a resistencia a múltiples agentes terapéuticos. En el presente trabajo se analizaron 116 casos de tumores de células germinales y neoplasia intratubular de células germinales y se estudió su expresión de APE-1 por Inmunohistoquímica.

Contribuciones y Conclusiones: Se demostró una diferencia estadísticamente significativa para la expresión de APE-1 entre los diversos tumores de células germinales y neoplasia intratubular de células germinales. El significado de esta diferencia en expresión, más notoria en el caso del carcinoma embrionario, es incierto, y pudiera teorizarse e investigarse su asociación a peor comportamiento clínico en futuros trabajos. Consideramos que los hallazgos encontrados en este estudio son importantes y esperamos que sean un paso que permita el desarrollo de nuevos estudios que traten de esclarecer el significado pronóstico y posiblemente terapéutico que la expresión de APE-1 puede tener.

FIRMA DEL DIRECTOR DE TESIS:_____

CAPITULO II

2. INTRODUCCIÓN

2.1 Cáncer testicular

A pesar de su tamaño y peso, el testículo es origen de diversos grupos de neoplasias. Las células espermatozógenas dan origen a la mayoría de los tumores testiculares. La gran mayoría son malignos y ocurren en jóvenes, sin embargo son curables con tratamientos actuales, por esto el diagnóstico adecuado es esencial. Las células de soporte e intersticiales son responsables de originar al grupo de tumores denominados de los cordones sexuales que se pueden asociar a múltiples síndromes clínicos. Una menor proporción tiene origen en los tejidos blandos paratesticulares.[1]

2.2 Clasificación de los Tumores testiculares

La Organización Mundial de la Salud clasifica histológicamente los tumores testiculares en 10 categorías:[1]

1. Tumores de células germinales:
 - a. Neoplasia intratubular germinal no clasificable (9064/2)
2. Tumores de un solo tipo histológico (formas puras)
 - a. Seminoma (9061/3)
 - b. Seminoma espermatozógeno(9063/3)
 - c. Carcinoma embrionario (9070/3)

- d. Tumor de senos endodérmicos (9071/3)
 - e. Coriocarcinoma (9100/3)
 - f. Teratoma (9080/3)
- 3. Tumores de más de un tipo histológico (formas mixtas)
- 4. Tumores de cordones sexuales
 - a. Tumor de células de Leydig (8650/1)
 - b. Tumor maligno de células de Leydig (8650/3)
 - c. Tumor de células de Sertoli (8641/0)
 - d. Tumor maligno de células de Sertoli (8640/3)
 - e. Tumor de células de la granulosa (8620/1)
 - f. Tecoma (8600/0)
 - g. Fibroma (8610/0)
 - h. Tumor de cordones sexuales incompletamente diferenciado (8591/1)
 - i. Formas mixtas de tumores de cordones sexuales (8692/1)
 - j. Tumores de cordones sexuales malignos (8590/3)
 - k. Gonadoblastoma (9073/1)
- 5. Tumores misceláneos del testículo
 - a. Tumor carcinoide (8240/3)
 - b. Tumor seroso de malignidad borderline (8442/1)
 - c. Carcinoma seroso (8441/3)
 - d. Carcinoma endometriode bien diferenciado (8380/3)
 - e. Cistadenomamucinoso (8470/0)
 - f. Cistadenocarcinomamucinoso (8470/3)
 - g. Tumor de Brenner (9000/0)
 - h. Nefroblastoma (8960/3)
 - i. Paraganglioma (8680/1)
- 6. Tumores hematopoyéticos
- 7. Tumores de la rete testis y ductos colectores
 - a. Adenoma (8140/0)
 - b. Carcinoma (8140/3)

8. Tumores de las estructuras paratesticulares
 - a. Tumor adenomatoide (9054/0)
 - b. Mesotelioma maligno (9050/3)
 - c. Mesotelioma papilar bien diferenciado (9052/0)
 - d. Mesotelioma quístico (9055/0)
 - e. Adenocarcinoma del epidídimo (8140/3)
 - f. Cistadenoma papilar del epidídimo (8450/0)
 - g. Tumor melanoticoneuroectodermico (9363/0)
 - h. Tumor desmoplásico de células pequeñas redondas (8806/3)
9. Tumores mesenquimales del cordón espermático y anexos testiculares
10. Tumores secundarios del testículo

2.3 Estadificación del cáncer testicular

El sistema de estadificación actualmente recomendado es el de la American Joint Committee on Cancer, el cual fue publicado en 2010 y consiste en: [2]

TABLA 1

ESTADIFICACIÓN DE TUMORES PRIMARIOS EN CÁNCER TESTICULAR

Tumor primario (T)	
La extensión del tumor primario usualmente es clasificada luego de una orquiectomía radical	
pTX	Tumor primario no valorable
pT0	Sin evidencia de tumor primario
pTis	Neoplasia intratubularde células germinales (carcinoma in situ)
pT1	Tumor limitado a testículo y epidídimo sin invasión vascular o linfática; el tumor puede invadir la túnica albugínea pero no la túnica vaginalis
pT2	Tumor limitado al testículo y epidídimo con invasión vascular o linfática, o tumor que se extiende a través de la túnica albugínea con involucro de la túnica vaginalis
pT3	Tumor que invade el cordón espermático con o sin invasión vascular o linfática
pT4	Tumor que invade el escroto con o sin invasión vascular o linfática

TABLA 2

**ESTADIFICACIÓN DE GANGLIOS LINFÁTICOS REGIONALES EN CÁNCER
TESTICULAR**

Ganglios linfáticos regionales (N)	
Clínica	
NX	Ganglios linfáticos regionales no valorables
N0	Sin metástasis a ganglios linfáticos regionales
N1	Metástasis a un ganglio linfático ≤ 2 cm en su dimensión mayor; o múltiples ganglios linfáticos metastásicos, ninguno > 2 cm en su dimensión mayor
N2	Metástasis a un ganglio linfático > 2 cm pero no > 5 cm en su dimensión mayor; o múltiples ganglios linfáticos metastásicos, cualquiera > 2 cm pero no > 5 cm en su dimensión mayor
N3	Metástasis a un ganglio linfático > 5 cm en su dimensión mayor
Patológica (pN)	
pNX	Ganglios linfáticos regionales no valorables
pN0	Sin metástasis a ganglios linfáticos regionales
pN1	Metástasis a un ganglio linfático ≤ 2 cm en su dimensión mayor y ≤ 5 ganglios positivos, ninguno > 2 cm en su dimensión mayor
pN2	Metástasis a un ganglio linfático > 2 cm pero no > 5 cm en su dimensión mayor; o > 5 ganglios linfáticos positivos, ninguno > 5 cm; o evidencia de extensión tumoral extranodal
pN3	Metástasis a un ganglio linfático > 5 cm en su dimensión mayor

TABLA 3

ESTADIFICACIÓN DE METASTASIS A DISTANCIA EN CANCER

TESTICULAR

Metástasis a distancia (M)	
M0	Sin metástasis a distancia
M1	Metástasis a distancia
M1a	Metástasis pulmonar o a ganglio linfático no regional
M1b	Metástasis a distancia distinta a pulmonar o ganglio linfático no regional

Adicionalmente se toma en consideración los valores de marcadores séricos (α -Fetoproteína (AFP), gonadotrofina coriónica humana (GCH) y lactato deshidrogenasa (LDH)) de la siguiente manera:

TABLA 4

MARCADORES SÉRICOS TUMORALES PARA ESTADIFICACIÓN

Marcadores séricos tumorales necesarios para estadificación	
SX	No realizado o no disponible
S0	Niveles en límites normales
S1	LDH < 1.5 veces el límite normal y GCH (mlu/ml) < 5,000 y AFP (ng/ml) < 1,000
S2	LDH 1.5 – 10 veces mayor al límite normal o GCH (mlu/ml) 5,000 – 50,000 o AFP (ng/ml) 1,000 – 10,000
S3	LDH > 10 veces el límite normal o GCH (mlu/ml) > 50,000 o AFP (ng/ml) > 10,000

Una vez clasificando el Tumor (T), los ganglios linfáticos regionales (N), la metástasis (M) y los marcadores tumorales (S), se determina en que estadio se encuentra de la siguiente manera:

TABLA 5
GRUPOS PRONÓSTICOS EN CANCER TESTICULAR

Estadio Anatómico / Grupos pronósticos				
Grupo	T	N	M	S
Estadio 0	PTis	N0	M0	S0
Estadio I	pT1-4	N0	M0	SX
Estadio IA	pT1	N0	M0	S0
Estadio IB	pT2	N0	M0	S0
	pT3	N0	M0	S0
	pT4	N0	M0	S0
Estadio IS	Cualquier pT/Tx	N0	M0	S1-3
Estadio II	Cualquier pT/Tx	N1-3	M0	SX
Estadio IIA	Cualquier pT/Tx	N1	M0	S0
	Cualquier pT/Tx	N1	M0	S1
Estadio IIB	Cualquier pT/Tx	N2	M0	S0
	Cualquier pT/Tx	N2	M0	S1
Estadio III	Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1	SX
Estadio IIIA	Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1a	S0
	Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1a	S1
Estadio IIIB	Cualquier pT/Tx	N1-3	M0	S2
	Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1a	S2
Estadio IIIC	Cualquier pT/Tx	N1-3	M0	S3
	Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1a	S3
	Cualquier pT/Tx	Cualquier N	M1b	Cualquier S

2.4 Epidemiología

Los tumores de células germinales son las neoplasias más frecuentes, representando un 95% de las neoplasias testiculares [3]. Afectan principalmente a hombres jóvenes y su incidencia ha aumentado en las últimas décadas. En muchas regiones, incluyendo Norte América y Norte de Europa se ha convertido en el cáncer más común en el grupo de edad de 15 a 44 años.[1]

La distribución etaria de los tumores de células germinales es inusual. Su incidencia presenta un pequeño pico durante la infancia con un nadir a los 10 años con un posterior aumento rápido luego de la pubertad, el pico máximo se alcanza entre los 25 y 30 años, la mayoría de los casos en pacientes ancianos corresponde a tumores no germinales, principalmente linfoma. [4]

La incidencia de tumores de células germinales muestra una importante variación geográfica, la incidencia más alta se encuentra en Europa (Dinamarca, Alemania, Noruega, Hungría y Suiza) en donde se encuentra en 8-10 por 100,000 habitantes. En poblaciones de África, Caribe y Asia la incidencia es menor a 2 por 100,000 habitantes.[5]

La incidencia de seminoma y tumores no seminomatosos son muy similares, pero la edad modal de los tumores no seminomatosos es cerca de 10 años más temprana que para el seminoma, esto es probablemente reflejo del crecimiento más rápido y capacidad de metastatizar de los tumores no seminomatosos.[5]

2.5 Neoplasia intratubularde células germinales

Se define como células germinales con abundante citoplasma vacuolado, grandes, con núcleos irregulares y nucléolos prominentes localizadas dentro de túbulos seminíferos[1] (Figura 1). Su importancia práctica es su progresión a Tumor de células germinales invasor en aproximadamente 50% de los casos dentro de los primeros 5 años luego de su identificación [6]. Se asocia fuerte y específicamente a tumores de células germinales. La prevalencia de carcinoma

in situ en una población de hombres va de menos de 1% en hombres normales a entre 2 y 3% en hombres con historia de criptorquidia y 5% en el testículo contralateral en hombres con historia de tumor de células germinales testicular [7]. Asimismo se encuentra prácticamente siempre presente en el tejido que rodea a los tumores de células germinales. Se ha inferido de estas observaciones que la neoplasia intratubular de células germinales progresa casi inevitablemente a cáncer invasor [3]. El declive que existe en la incidencia de neoplasia intratubular de células germinales en mayores de 40 años puede deberse a que la mayoría de los pacientes que la padece ya presentó antes de dicha edad un cáncer invasor [8].

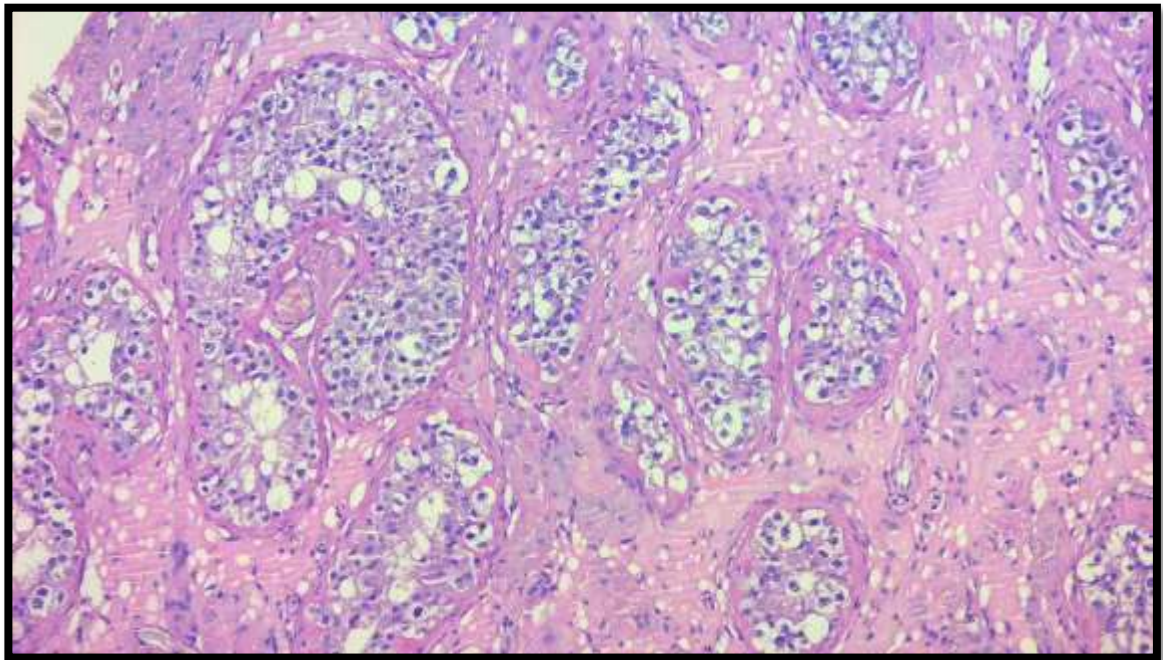


Figura 1.-Microfotografía ilustrativa de Neoplasia intratubular de células germinales. Tinción de Hematoxilina y eosina, x100.

2.6 Tumores germinales

2.6.1 Seminoma

El seminoma es el tumor de células germinales que más comúnmente se presenta como forma pura, dichos casos representan alrededor del 40 a 50% [9]. Se presenta en pacientes con promedio de 40 años, aproximadamente una década mayores que el promedio de los pacientes con tumores no seminomatosos[10].

Aproximadamente 30% de los pacientes presenta metástasis al momento del diagnóstico, aunque entre un 57 y 75% se encuentra en estadio I al momento del diagnóstico [9]. Los pacientes con seminoma no suelen presentar elevación sérica de AFP y/o GCH, a diferencia de los pacientes con tumores no seminomatosos [3]. Entre un 10 y 20% de los pacientes en estadio I con tumores seminomatosos puros presentan elevación de la GCH, y un 25% o más en pacientes en estadios más altos [11]. La elevación de la GCH se debe a presencia de elementos sincitiotrofoblásticos.

Macroscópicamente suele presentarse como un tumor de color café claro, multinodular con pequeños focos de necrosis de color amarillo. Microscópicamente se dispone en un patrón difuso, sólido, dividido por septos fibrosos con infiltrado inflamatorio predominantemente linfocitario y algunos eosinófilos y células plasmáticas; en algunas ocasiones las células neoplásicas pueden disponerse en cordones (Figura 2). Las células del seminoma son claras o ligeramente eosinofílicas, miden entre 15 y 25 μm de diámetro. Su núcleo es uniforme, redondo a oval con cromatina fina granular y uno o dos nucléolos prominentes. En algunas ocasiones se desarrollan vacuolas intracitoplasmáticas que dan apariencia en células en anillo de sello [3].

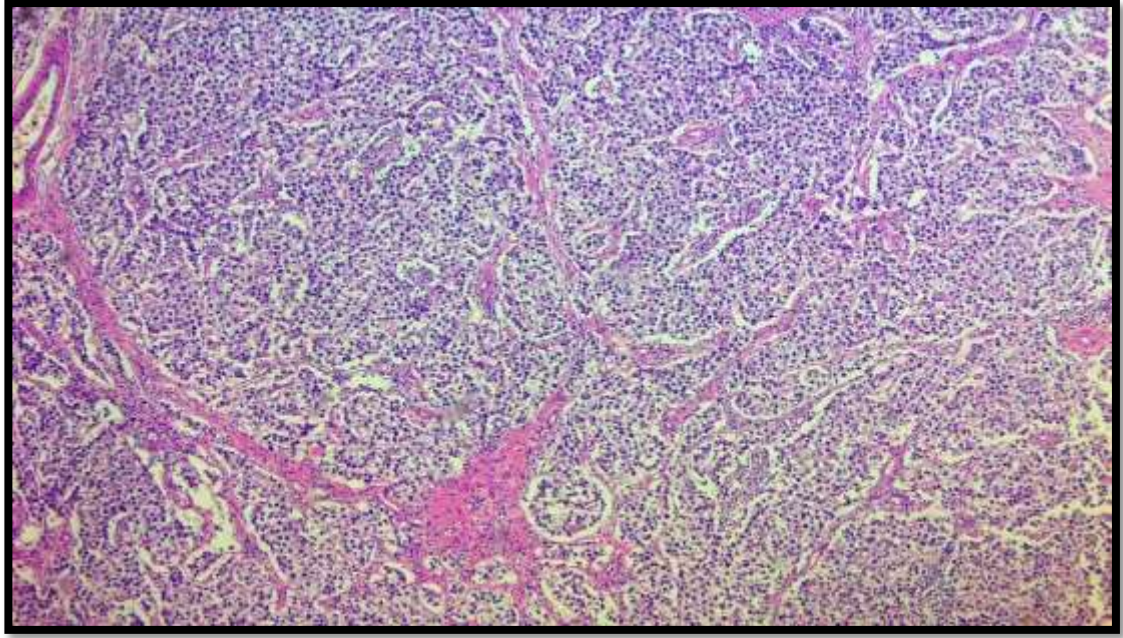


Figura 2.-Microfotografía ilustrativa de Seminoma. Tinción de Hematoxilina y eosina, x50.

Pueden presentar múltiples figuras mitóticas, sin embargo existe evidencia que seminomas con múltiples figuras mitóticas se comportan igual que los que no las poseen. Aunque algunos seminomas se comportan más agresivamente que otros, aun no se ha esclarecido si dichos casos pueden ser identificados prospectivamente.

La mayoría de los casos presente positividad membranosa o citoplasmática para Fosfatasa alcalina placentaria (PLAP) y CD117, y nuclear para OCT4 y SALL4. CD30 es usualmente negativo, a diferencia de carcinoma embrionario en donde usualmente es positivo [3].

Los pacientes en estadios I y II son tratados usualmente con orquiectomía y radiación a los ganglios linfáticos paraaórticos y paracava, frecuentemente con radiación pélvica ipsilateral. Más del 95% de los pacientes en estadio clínico I y II se curan[12]. Sin embargo un 20% de los pacientes en estadio I presenta recurrencias[13]. La quimioterapia se recomienda para involucro retroperitoneal

o en estadios avanzados. Estudios recientes han encontrado que entre las variables: tamaño mayor de 6 cm, invasión a rete testis, penetración de túnica albugínea, invasión vascular, invasión a epidídimo y a base de cordón espermático, solo la primera demostró ser un factor predictor independiente en un análisis multivariado [14]. Pese a múltiples intentos por identificar ya sea por inmunofenotipo u otra metodología al subgrupo de pacientes con pobre pronóstico desde una etapa temprana, para cambiar su terapéutica, esto no se ha logrado.

2.6.2 Carcinoma embrionario

Aunque el carcinoma embrionario es muy común en los tumores de células germinales mixtos, presentándose en un 87% de los tumores de células germinales no seminomatosos, es poco frecuente en forma pura, representado solo entre el 2 y el 10% de los tumores testiculares en diversas series [3,10]. La poca frecuencia de casos puros se atribuye a que en la mayoría de los casos se encuentran focos de tumor de senos endodérmicos; este hallazgo a su vez es reflejo de la capacidad del carcinoma embrionario para diferenciarse a otras formas de neoplasia testicular, propiedad que se ha verificado en estudios experimentales [15].

Su pico de incidencia ocurre a los 30 años, es raro que se presente en edades prepuberales [10]. Se presenta con metástasis en un 40% [16]. Cursa con elevación sérica de GCH en un 60% de los casos [17]. También puede presentarse elevación de niveles séricos de PLAP, LDH, y CA19-9 [18].

Macroscópicamente presenta bordes mal definidos, es de color blanco grisáceo y presenta áreas prominentes de hemorragia y necrosis. Microscópicamente presenta tres patrones, todos compuestos de grupos cohesivos de células epiteliales anaplásicas (Figura 3); en el patrón sólido las células se disponen en sábanas sólidas, en el patrón tubular o glandular se compone de estructuras tubulares revestidas por un epitelio cuboidal a columnar, y el patrón papilar se

caracteriza por la formación de papilar que pueden o no tener centros estromales. Frecuentemente presentan focos de necrosis coagulativa y figuras mitóticas atípicas [3].

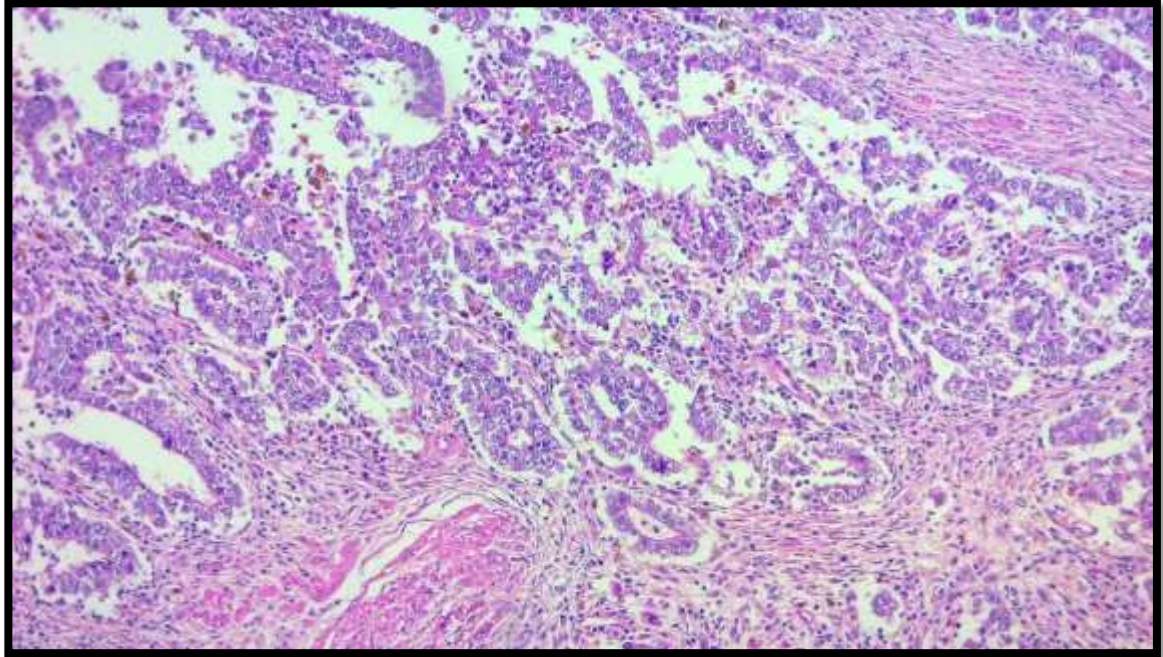


Figura 3.-Microfotografía ilustrativa de Carcinoma embrionario. Tinción de Hematoxilina y eosina, x50.

Inmunofenotípicamente es positivo para PLAP en 86 a 97% de los casos en parches y en intensidad menor a la del seminoma. También es positivo para CD30 en 84% de los casos y para OCT4 en casi todos los casos, mientras que el Antígeno de membrana epitelial (EMA) es negativo en casi todos los casos. Otro marcador de importancia es el SOX2 el cual solo es positivo en carcinoma embrionario y teratoma inmaduro [3].

El tratamiento de los tumores de células germinales no seminomatosos depende del estadio clínico del paciente, sin embargo hay falta de consenso en cuanto al mejor abordaje en algunos casos. Esta falta de consenso es más evidente en el estadio I [3]. Se ha reportado un 21% de recurrencia en pacientes en estadio I que tienen predominio de carcinoma embrionario [19]. La recurrencia puede detectarse por elevación de marcadores séricos. Entre los factores que correlacionan con recurrencia se encuentran invasión linfovascular,

grandes proporciones de carcinoma embrionario, ausencia de tumor de senos endodérmicos, menos de 50% de teratoma, presencia de coriocarcinoma y alta proporción de células en proliferación [16,20].

Los pacientes con involucro retroperitoneal (estadio II) se suelen manejar con disección de ganglios linfáticos retroperitoneales y seguimiento o terapia adyuvante; dichos pacientes presentan tasas de sobrevida de 95% [21]. Para pacientes en estadios más altos el tratamiento consiste en una combinación de quimioterapia seguida de resección quirúrgica de masas residuales; dichos pacientes presentan tasas de sobrevida de 70 a 80% [22].

2.6.3 Tumor de senos endodérmicos

El tumor de senos endodérmicos en testículos prepuberales casi siempre es puro y tiene una media de 18 meses con un rango de edad de entre recién nacido y 9 años[23]. En pacientes postpuberales, casi siempre se presente en tumores mixtos y el rango cae entre los 15 y 45 años con un promedio entre 25 y 30 años[24]. Diversos estudios reportan componente de tumor de senos endodérmicos en un 44% de los casos[25].

Los niños con tumores de senos endodérmicos casi siempre se presentan con una masa testicular indolora. Solo 6% presentan metástasis al momento del diagnóstico [23]. Los adultos con tumor de senos endodérmicos tienden más a tener enfermedad en estadios tempranos que en aquellos que no lo presentan; la ausencia de tumor de senos endodérmicos ha sido postulado como un predictor de metástasis oculta[26]. Casi todos los pacientes con tumor de senos endodérmicos tienen elevación de AFP sérica [27].

Macroscópicamente en niños aparecen como tumores sólidos grisáceos a café, homogéneos con superficie al corte mixoide o gelatinosa con áreas frecuentes de hemorragia, necrosis o degeneración quística. Microscópicamente se han descrito diversos patrones entre los que se encuentran microquístico, en senos

endodérmicos, papilar, sólido, glandular, mixomatoso, sarcomatoide, macroquístico, vitelino polivesicular, hepatoide y parietal [3].

El patrón microquístico es el más común y se caracteriza por vacuolas intracelulares creando uniones en un arreglo como telaraña, las células pueden parecer lipoblastos debido a que presentan un núcleo rechazado a la periferia secundario a vacuolas. En algunos casos las células se disponen en cordones y alrededor de espacios extracelulares creando el patrón reticular. El patrón microquístico suele asociarse al mixomatoso (Figura 4). El patrón en senos endodérmicos consiste de un vaso central rodeado por tejido fibroso y epitelio maligno, dicha estructura es conocida como cuerpo de Schiller-Duval. El patrón papilar se caracteriza por presencia de papilas, con o sin tallos fibrovasculares que se proyectan a espacios quísticos. El patrón sólido es común y puede simular al seminoma, consiste de sábanas de células uniformes con citoplasma claro y bordes bien definidos, pero carece de septos fibrosos e infiltrado linfocítico [3].

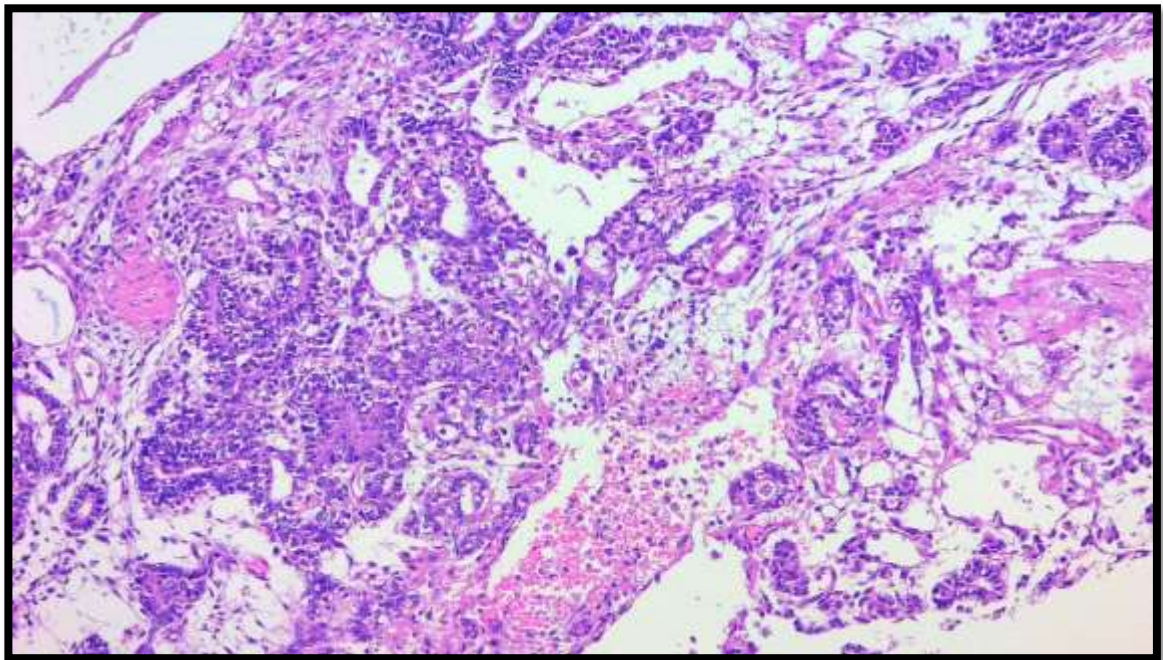


Figura 4.-Microfotografía ilustrativa de Tumor de senos endodérmicos. Tinción de Hematoxilina y eosina, x50.

El tumor de senos endodérmicos puede mostrar diferenciación glandular, dichas glándulas suelen presentar vacuolas subnucleares. El patrón mixomatoso es común, consiste de células epitelioides a fusiformes dispersas en un estroma rico en mucopolisacáridos. Diversos estudios han mostrado que las células fusiformes tienen capacidad para producir músculo esquelético, cartílago y hueso, evidenciando la relación entre teratoma y tumor de senos endodérmicos [3].

El patrón sarcomatoide es poco común, consiste de una proliferación de células fusiformes positivas para citoqueratina, glypican 3 y SALL4. El patrón macroquístico se origina de espacios microquísticoscoalescentes. El patrón vitelino polivesicular está compuesto por estructuras circulares delineadas por epitelio plano de apariencia benigna. El patrón hepatoide se presenta en un 20% de los casos y se compone de pequeños grupos de células eosinofílicas poligonales. El patrón parietal presenta extensos depósitos de membrana basal extracelular y solo algunas células neoplásicas en una matriz eosinofílica abundante [3].

La mayoría de los tumores de senos endodérmicos muestran positividad para AFP (la frecuencia va de 50 a 100%), dicha positividad es en parches y mayormente descrita en adultos que en niños. Glypican 3 presenta positividad de hasta 100% en algunas series. SALL4 presenta positividad casi en la totalidad de los casos, como la presenta en el resto de los tumores germinales [3].

La presencia de componente de tumor de senos endodérmicos ha sido asociada a una disminución en el riesgo de metástasis ocultas [28]. Sin embargo los pacientes con componente de senos endodérmicos metastásico no suelen responder a quimioterapia y presentan peor pronóstico. Los tumores de senos endodérmicos puros suelen presentar involucro retroperitoneal en un 4 a 14% de los casos [29]. El pronóstico para la forma pura es de supervivencia a 5 años mayor a 90% [30].

2.6.4 Coriocarcinoma

Es un componente poco común de tumores de células germinales mixtos (presente en un 15% de los casos) [31]. Como componente único es más raro aún, representando solo 0.3% de los tumores testiculares en una serie de 6000 casos. Suele presentarse como metástasis a diferencia de los otros tumores germinales que suelen presentarse como una masa testicular. Los sitios de metástasis más comunes son pulmón, cerebro y tracto gastrointestinal. Son más comunes en la segunda y tercera década de la vida, aunque también ha sido reportado antes de la pubertad [32].

Macroscópicamente la superficie de corte muestra un nódulo hemorrágico y necrótico. Microscópicamente consiste de una mezcla de células de trofoblastomononucleadas con citoplasma claro o ligeramente eosinofílico y células de sincitiotrofoblasto multinucleadas con núcleos atípicos y citoplasma fuertemente eosinofílico (Figura 5). El área alrededor del coriocarcinoma casi siempre es hemorrágica y necrótica [3].

Presenta positividad para GCH en células de sincitiotrofoblasto, el citotrofoblasto suele presentar positividad débil o ausente, y a su vez este componente es positivo para SALL4 [3].

El coriocarcinoma tiende a metastatizar antes de que se diagnostique el tumor primario, por lo que la mayoría de los pacientes se presentan en estadios tardíos. Es por esto que cursa con peor pronóstico que el resto de los tumores de células germinales. Cuando solo es un componente en un tumor germinal mixto también cursa con peor pronóstico, sin embargo no está bien establecido el porcentaje de tumor que debe estar presente para que esto se refleje [3].

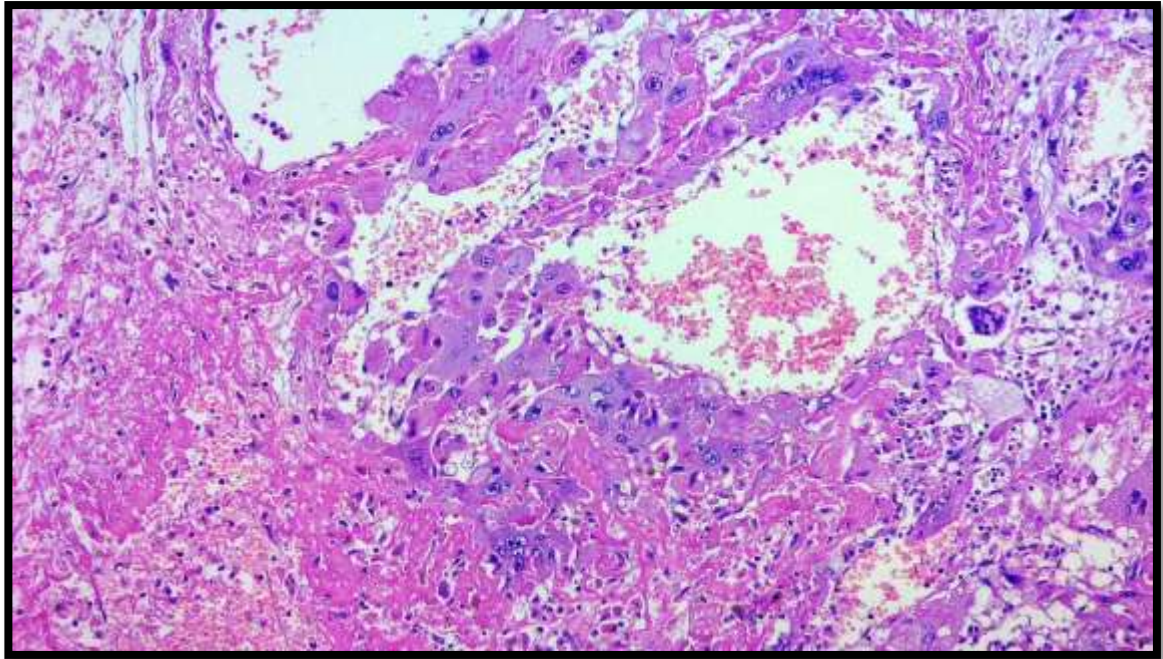


Figura 5.-Microfotografía ilustrativa de Coriocarcinoma. Tinción de Hematoxilina y eosina, x100.

2.6.5 Teratoma

Es el segundo tumor de células germinales más común en niños [33]. En adultos se presenta como componente de tumor de células germinales mixto y se presenta en más de la mitad de los casos [34]. El teratoma maduro no da metástasis salvo en extraños casos postpuberales, los cuales se ha postulado que podrían deberse a metástasis de elementos no teratomatosos con subsecuente transformación teratomatosa[35]. Casi todos los teratomas maduros postpuberales son malignos. Se ha propuesto que a diferencia de estos, los teratomas pediátricos no se originan de neoplasia intratubular de células germinales sino de células germinales benignas con diferenciación teratomatosa [36].

La mayoría de los pacientes con teratoma testicular se presentan con una masa testicular; aunque los postpuberales pueden presentar primero metástasis.

Puede haber elevación de marcadores séricos por componentes acompañantes como tumor de senos endodérmicos o células de sincitiotrofoblasto[37].

Macroscópicamente tiene apariencia variable, puede ser sólido, sólido quístico, puede contener áreas cartilaginosas y otras de aspecto hemorrágico. Microscópicamente consiste de una variedad de tejidos somáticos, incluyendo músculo, neuroglia, glándulas entéricas, epitelio escamoso, respiratorio, urotelial, hueso, tejido hepático, renal, pancreático, tiroideo o prostático. Todos estos tejidos son considerados maduros, sin embargo pueden llegar a mostrar atipia [3].

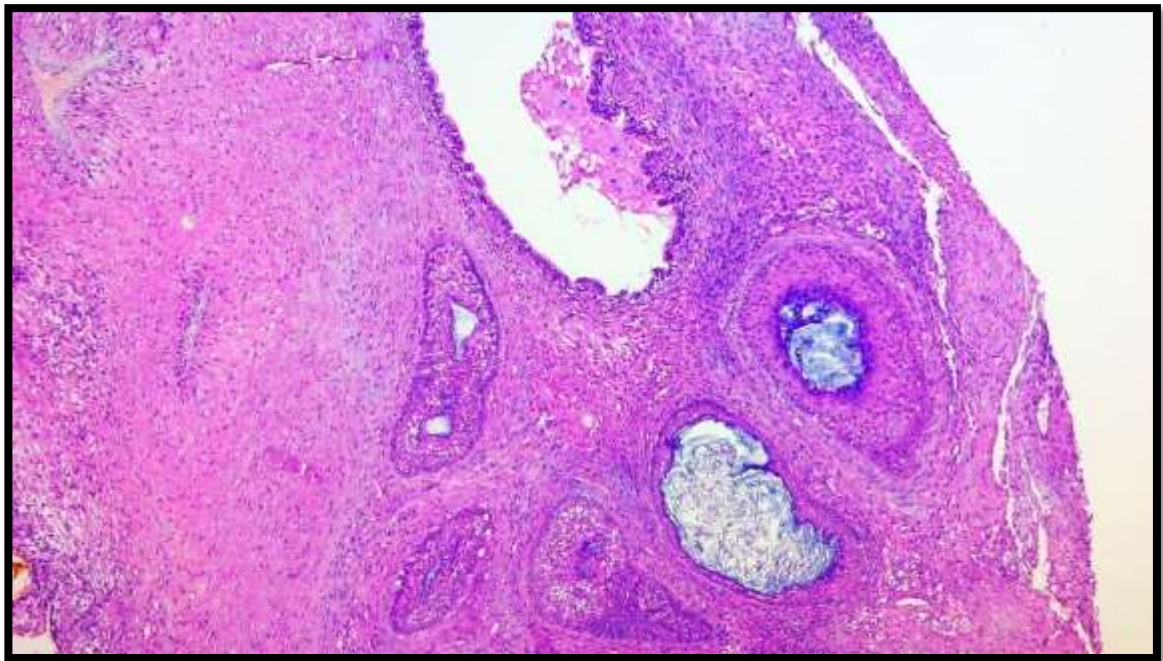


Figura 6.-Microfotografía ilustrativa de Teratoma. Tinción de Hematoxilina y eosina, x50.

En casos postpuberales comúnmente puede haber elementos inmaduros, pero no se conoce que tenga un significado pronóstico. Estos elementos se reconocen fácilmente cuando consisten de neuroectodérmico, blastema o túbulos embrionarios. El neuroectodermo consiste de células pequeñas, hipercromáticas dispuestas en túbulos o rosetas. El blastema consiste de colecciones nodulares de células ovales con citoplasma escaso y núcleos

hipercromáticos. El inmunofenotipo de los elementos teratomatosos corresponde al esperado para la naturaleza del tejido en particular [3].

El pronóstico para los pacientes con teratoma testicular puro es variable. Los pacientes prepuberales generalmente se curan con orquiectomía. Los pacientes postpuberales presentan pronóstico reservado. Se ha reportado metástasis de hasta 40% de los casos con sobrevida a 5 años variando de 70% a 100% según la serie [3].

2.7 Endonucleasaapurínica/apirimidínica 1 (APE-1/ref-1)

La endonucleasa apurínica/apirimidínica 1 (APE-1/ref-1) es una proteína ubicua multifuncional. Juega un papel central en la vía de reparación de escisión de bases (VREB) la cual busca mantener la normalidad del material genético ante el daño a las bases inducidas por especies reactivas de oxígeno o agentes alquilantes, y ante la ausencia de bases generada por la escisión de bases oxidadas o alquiladas por glicosilasas de ADN. Al ser una endonucleasa APE-1 escinde el sitio ausente de base para generar terminales 3'-OH y 5'-deoxirribosa fosfato, las cuales son utilizadas por la ADN polimerasa para la síntesis reparativas en las células de los mamíferos [39]. Asimismo tiene una función de reducción – oxidación (redox) por medio de la cual mantiene a diversos factores de transcripción en un estado reducido activo. De esta manera el APE-1 regula a numerosos factores de transcripción implicados en promoción y progresión de cáncer como lo son AP-1(Fos/Jun), NFκB, HIF-1α, CREB, p53 entre otros[40]. Basado en lo anteriormente expuesto, está claro que la actividad de reparación que realiza APE-1 es fundamental para el mantenimiento del genoma y la supervivencia celular y por tanto puede contribuir a la resistencia de las células tumorales a la terapia[41]. La expresión de APE-1 se ha encontrado alterada en múltiples neoplasias.

En melanoma se ha encontrado sobreexpresión nuclear y citoplasmática de niveles de APE-1 en células neoplásicas, en comparación a melanocitos normales en ensayos realizados por Western blot. Asimismo se han identificado diferencias de expresión entre biopsias de nevus y melanomas (positividad fuerte) en comparación con biopsias de piel normal (positividad débil) mediante la utilización de inmunofluorescencia. También se ha demostrado una disminución significativa en apoptosis de células de melanoma inducidas a sobreexpresar APE-1 y que posteriormente reciben cisplatino o H₂O₂ en comparación con células de melanoma que no reciben dicha inducción de sobreexpresión, lo cual sugiere que los niveles de APE-1 pueden afectar la sensibilización del melanoma a apoptosis [42].

En mama se ha descrito por inmunohistoquímica redistribución de APE-1 nuclear en células epiteliales normales a citoplasma en células de Carcinoma ductal in situ y de carcinoma invasor [43].

En estómago se ha reportado aumento de expresión de APE-1 por inmunohistoquímica en tejido gástrico infectado por H. pylori y adenomas gástricos en comparación con tejido no infectado, tejido tratado con terapia de erradicación o tejido de cáncer gástrico[44]. En esófago se ha investigado la expresión de APE-1 por inmunohistoquímica en carcinoma espinocelular, encontrándolo en localización nuclear en un 89.6% de los casos con intensidad fuerte, mientras que el tejido normal alrededor del cáncer presentó positividad con intensidad débil [45].

En tumores de células germinales se ha evaluado la expresión de APE-1 por inmunohistoquímica, sin embargo los casos evaluados fueron solo 4 tumores de senos endodérmicos, 4 teratomas y 2 seminomas. Se observó positividad en todos ellos, en un rango de 60 a 90% de los núcleos, se identificó mayor intensidad en teratomas que en el resto de los tumores de células germinales, sin embargo al ser un número tan pequeño no se realizaron pruebas para comprobar significado estadístico. Asimismo se utilizó un cultivo celular de células de tumores germinales a las cuales se les indujo a sobreexpresar APE-1

por medio de retrovirus y posteriormente se les administro bleomicina, comparándolas contra otro grupo no inducido a sobreexpresar APE-1, se encontró una protección de entre 2 a 3 veces mayor para el grupo inducido, por lo que se concluyó que la elevación de la expresión de APE-1 resulta en resistencia a ciertos agentes terapéuticos y que sus niveles son paralelos al nivel de protección a bleomicina [46]. Un efecto similar se ha observado para los fármacos carmustine, TMZ y gemcitabina[47]. Sin embargo el rol que pudiera jugar en relación a otros agentes terapéuticos es más complicado, pues, contrario a estos resultados, se ha reportado su potencial rol en el aumento a la respuesta a ciertos agentes terapéuticos, esto al involucrarse en la activación de p53 e inducir a la Ciclina G, un proceso integral en la respuesta apoptótica a Cisplatino en tumores de células germinales [48].

Todo lo anterior descrito ha hecho pensar al APE-1 como un blanco molecular. Lucanthone es un inhibidor directo de la actividad de reparación de la APE-1, inicialmente se descubrió como un inhibidor de la Topoisomerasa II, actualmente se sabe que cumple ambas funciones. El tratamiento con Lucanthone en líneas celulares con cáncer de mama causa un aumento en los sitios con ausencia de bases y un aumento en los niveles de apoptosis dosis dependiente [39,49], sin embargo dicho efecto se ha atribuido más a su actividad inhibidor de la Topoisomerasa II.

La actividad redox de la APE-1 ha sido implicada en angiogénesis, así como en promoción y progresión tumoral. Inhibiendo dicha actividad redox los factores de transcripción no podrían unirse al ADN y por lo tanto la señalización tumoral, su angiogénesis y crecimiento sin control serian detenidos. Uno de los inhibidores de la actividad redox es el resveratrol, el cual es un compuesto natural que se encuentra en vino y uvas. El resveratrol ha reducido la unión de AP-1 y NFκB al ADN en cultivos de células de melanoma [42], sin embargo en investigaciones en las que se ha medido la actividad de APE-1 luego de la administración de resveratrol no se ha encontrado diferencia significativa, por lo que podría ser que la inhibición que causa el resveratrol no sea específica de la

función de APE-1. Otro compuesto que ha sido estudiado como inhibidor de la actividad redox de la APE-1 es el E3330 el cual se ha mostrado que inhibe la unión de NFκB al ADN, y que es específico de APE-1 [39].

CAPÍTULO III

3. HIPÓTESIS

La expresión de la endonucleasa apurínica/apirimidínica (APE-1) en los diferentes tumores de células germinales y neoplasia intratubular de células germinales es distinta y por lo tanto se describirá su heterogeneidad de expresión.

3.1 Hipótesis nula

La expresión de la endonucleasa apurínica/apirimidínica (APE-1) en los diferentes tumores de células germinales y neoplasia intratubular de células germinales no es distinta.

CAPÍTULO IV

4. JUSTIFICACIÓN

En nuestro medio, los tumores de células germinales testiculares representan una causa importante de enfermedad y mortalidad por cáncer, con un alto impacto en la sociedad por el grupo de edad en el que se presentan, por lo tanto es de suma importancia conocer la expresión que presenta el anticuerpo monoclonal contra APE1/ref-1 pues dichos resultados podrían ser utilizados posteriormente en el desarrollo de protocolos que establezcan su utilidad en el pronóstico de pacientes y su posible selección para el uso de terapia blanco molecular.

CAPÍTULO V

5. OBJETIVO

Determinar la relación que existe entre los diferentes tumores de células germinales y la neoplasia intratubular de células germinales con la expresión de la endonucleasa apurínica/apirimidínica (APE-1).

CAPÍTULO VI

6. MATERIAL Y MÉTODOS

Para la realización de este trabajo se revisaron los archivos de reportes del Servicio de Anatomía Patológica y Citopatología del Hospital Universitario “Dr. José Eleuterio González” de la Universidad Autónoma de Nuevo León comprendidos del 1 de enero de 2000 al 31 de diciembre de 2011 en busca de tumores de células germinales testiculares y/o neoplasia intratubular de células germinales

El universo de nuestra casuística se determinó como “muestra por accidente” en un periodo de tiempo de 12 años.

6.1 Criterios de Inclusión

- Diagnóstico histológico de tumor de células germinales testicular y/o neoplasia intratubular de células germinales
- Productos de orquitectomías
- Disponibilidad de los bloques de parafina
- Adecuada conservación del tejido

6.2 Criterios de Exclusión

- Ausencia de bloques de parafina
- Biopsias incisionales
- Inadecuada fijación del tejido

- Laminillas de revisión sin bloques de parafina
- Material insuficiente para realizar tinciones de Inmunohistoquímica

6.3 Recolección de datos clínicos

De cada caso se extrajeron del reporte anatomopatológico los siguientes datos:

- Edad
- Tamaño tumoral
- Estadío Clínico

6.4 Selección del material

Se revisaron todas las laminillas disponibles de cada uno de los casos para seleccionar un área tumoral que fuera representativa y con la menor cantidad de tejido necrótico posible. Las secciones de tejido fueron previamente fijadas con formalina al 10% y embebido en parafina, se realizaron cortes de 3 micras de espesor, montadas en portaobjetos y teñidas con la técnica histológica de rutina de hematoxilina y eosina. Del área marcada se tomó un sacabocado de 5mm del bloque de parafina para la construcción de histoarreglos. Se incluyeron 12 casos por bloque de parafina y un sacabocado de tejido normal como guía (Figura 7). Para cada bloque de parafina se realizaron tinciones de Inmunohistoquímica a base de APE-1.



Figura 7.-Bloque de parafina compuesto por 12 sacabocados que representan cada uno un caso y cortes en laminilla de dicho bloque teñidos con técnica de Hematoxilina y eosina e inmunotinción con anticuerpo Anti-APE-1.

6.5 Inmunohistoquímica

Previo a la realización del estudio, las diluciones fueron optimizadas para APE-1 usado a 1:6000 (Marca ThermoScientific). Para cada bloque de tejido embebido en parafina se realizaron secciones de 4 micras, se tiñeron con la técnica Complejo Estreptoavidina-Biotina incluyendo los pasos de desparafinización, incubación del anticuerpo, recuperación antigénica, digestión enzimática y finalmente la visualización usando el método de DAB (Diamino-benzidina) el cual es adicionado y actúa como un sustrato para la peroxidasa; esta reacción crea una coloración café. La peroxidasa endógena en el tejido es bloqueada previamente a la aplicación de los anticuerpos para prevenir una tinción inespecífica.

6.6 Evaluación de los resultados

Cada laminilla de Inmunohistoquímica se evaluó para la presencia o ausencia de expresión para APE-1 utilizando microscopía de luz.

Se definió como positividad la presencia de expresión nuclear en una proporción mayor al 25% de las células tumorales de cada componente. La intensidad fue valorada como Débil/+, Moderado/++ y Fuerte/+++.

6.7 Análisis Estadístico

Se trata de un análisis retrospectivo, descriptivo y observacional. Los datos fueron sometidos a distintos tratamientos estadísticos utilizando el programa computacional SPSS versión 17 (SPSS Inc. Software, Chicago, Illinois, USA). Finalmente se realizó un estudio de X^2 como prueba de independencia y para la estimación de varianzas.

CAPÍTULO VII

7. RESULTADOS

En un período de 12 años se recibieron un total de 188 casos de Tumores de células germinales y/o Neoplasia intratubular de células germinales. Se incluyeron un total de 116 casos los cuales cumplieron con los criterios de inclusión.

De los 116 casos incluidos, 109 (93.97%) fueron tumores de células germinales y 7 (6.03%) fueron exclusivamente neoplasia intratubular de células germinales. El rango de edad general fue de 2 meses a 87 años; el rango para el grupo de tumores de células germinales fue de 3 a 87 años y para el grupo exclusivamente con neoplasia intratubular de células germinales fue de 2 meses a 71 años. La media de edad para el grupo de tumores de células germinales fue de 28.52 años, con una mediana de 26 años. La mediana de edad para el grupo exclusivamente con neoplasia intratubular de células germinales fue de 11 años (Tabla 1). Los tumores de células germinales fueron más comunes en el grupo de edad entre 20 y 29 años, seguidos por el de 30 y 39 años y el de 10 a 19 años (Figura 8). El rango de tamaño tumoral fue de 0.9 a 19 cm con una media de 6.33 cm (Tabla 1).

En lo referente a la clasificación pTNM, 7 casos (6.03%) se presentaron como pTis, 45 (38.79%) como pT1, 51 (43.97%) como pT2, 13 (11.21%) como pT3 y ninguno como pT4. En relación al Estadio clínico, fue difícil determinarlo, puesto que solo en 5 casos se asentó el estado de ganglios linfáticos regionales y/o metástasis a distancia en el reporte de patología. Por lo que la gran mayoría, 106 casos (91.38%) fueron clasificados como Estadio I, 7 casos como Estadio 0

(6.04%), 2 casos (1.72%) fueron Estadio II, 1 caso (0.86%) Estadio III y ninguno como Estadio IV (Tabla 6).

TABLA 6
CARACTERISTICAS CLINICOPATOLOGICAS DE LOS CASOS

<i>Edad para grupo con tumores de células germinales</i>	
Media	28.52 años
Mediana	26 años
Rango	3-87 años
<i>Edad para grupo exclusivamente con neoplasia intratubular de células germinales</i>	
Mediana	11 años
Rango	2 meses-71 años
<i>Tamaño tumoral</i>	
Media	6.33 cm
Rango	0.9-19 cm
<i>Estadio</i>	
0	7 (6.04%)
I	106 (91.38%)
II	2 (1.72%)
III	1 (0.86%)
IV	0 (0%)

De los 109 casos de tumor de células germinales 64 (58.72%) fueron mixtos, mientras que 45 (41.28%) fueron puros. De los 45 puros, 37 (82.22%) fueron Seminoma, 4 (8.90%) Teratoma, 2 (4.44%) Carcinoma embrionario, 1 (2.22%) Senos endodérmicos y 1 (2.22%) Coriocarcinoma. De los 64 tumores de células germinales mixtos, el componente predominante fue, en 23 (35.94%) Carcinoma embrionario, 18 (28.13%) Teratoma, 12 (18.75%) Senos endodérmicos, 9 (14.06%) Seminoma cásico y 2 (3.12%) Coriocarcinoma. De

los 109 tumores germinales 37 (33.94) fueron Seminomas y 72 (66.06%) No seminomatosos (Figura 9).

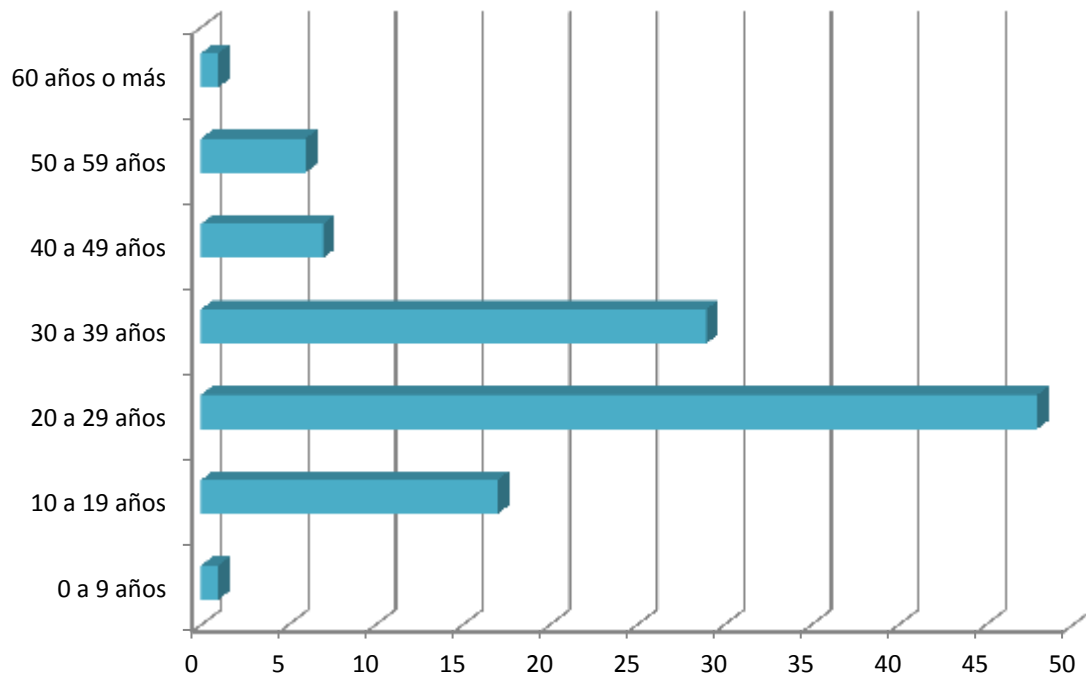


Figura 8.- Distribución por grupos de edad de los tumores de células germinales.

La expresión de APE-1 fue evaluada en cada uno de los componentes de los tumores de células germinales y Neoplasia intratubular de células germinales.

Se identificó neoplasia intratubular de células germinales en 60 casos, 7 como lesión única y 53 acompañando a tumores de células germinales. La totalidad de los casos presento positividad para APE-1, En 54 (90%) dicha positividad fue fuerte/+++ (Figura 10) y en los 6 casos restantes fue moderado/++ (Tabla 7).

En cuanto a los tumores de células germinales, se contó con 61 casos de Seminoma clásico, 37 como componente único y 24 casos como componente acompañante, de los cuales en 9 fue el componente predominante, 15 como componente secundario. De los 61 casos, hubo positividad en 49 (80.33%) y

negatividad en 12 (19.67%). De los 49 positivos, 31 (63.27%) presentaron positividad fuerte/+++, 17 (34.69%) moderado/++ (Figura 11) y 1 2.04%) débil/+ (Tabla 8).

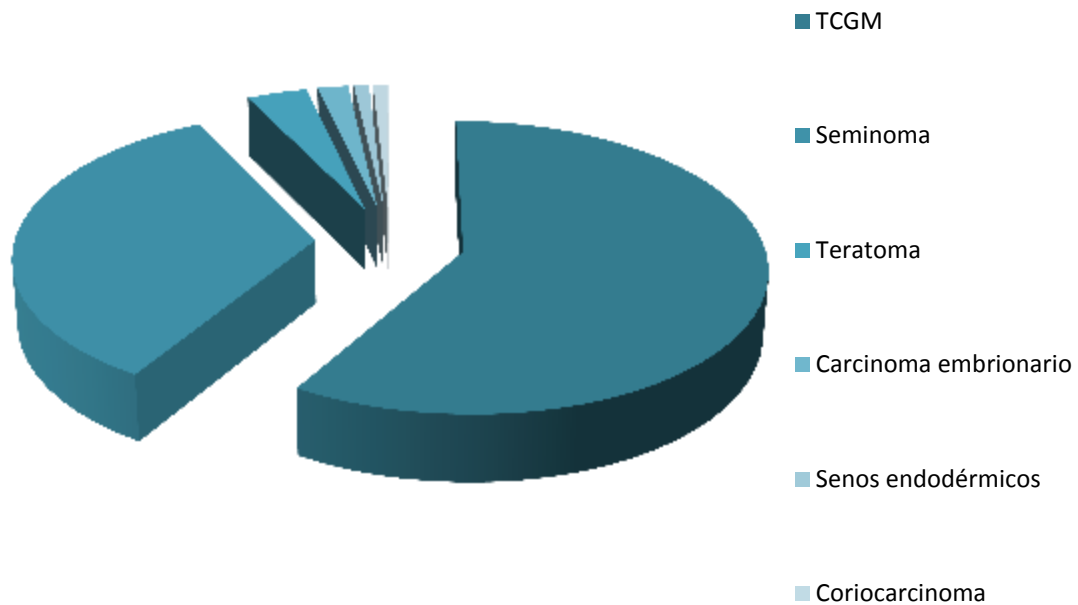


Figura 9.- Distribución por frecuencia y tipo de los 109 tumores de células germinales.

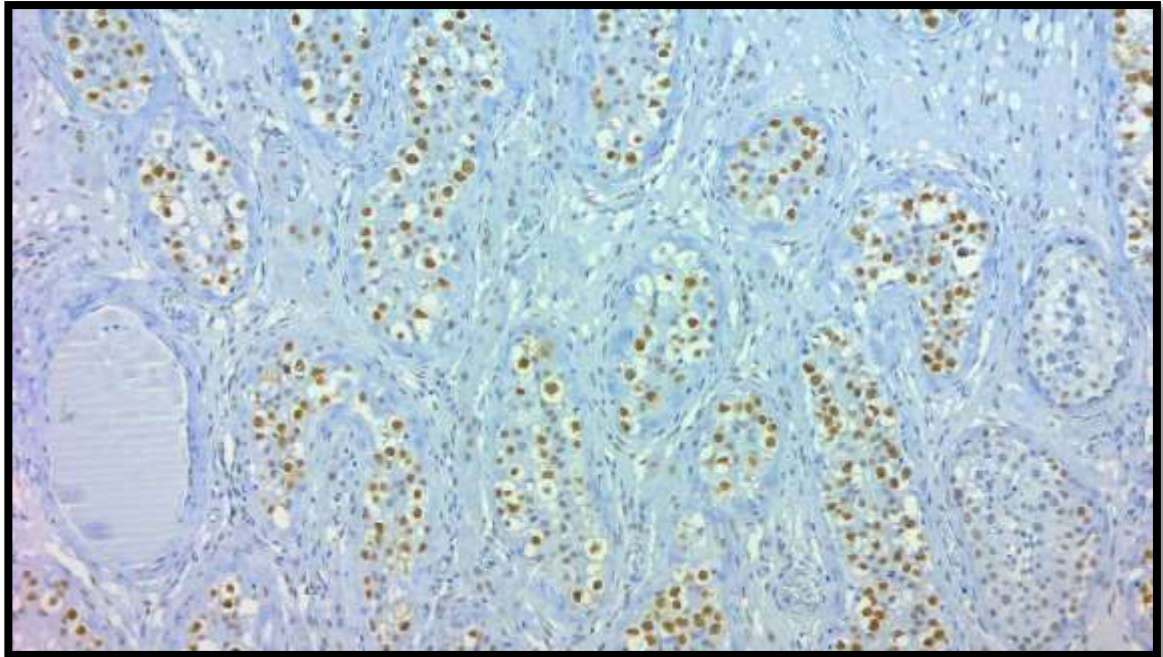


Figura 10.- Positividad Fuerte/+++ para APE-1 en neoplasia intratubular de células germinales. Inmunotinción con anticuerpo Anti-APE-1, x100.

TABLA 7

EXPRESION DE APE-1 EN NEOPLASIA INTRATUBULAR DE CELULAS GERMINALES

Expresión de APE-1 en Neoplasia intratubular de células germinales	
Casos como componente único	7
Casos como componente acompañante	53
Total de casos	60
Positividad para APE-1	60 (100%)
Fuerte/+++	54 (90%)
Moderado/++	6 (10%)
Débil/+	0 (0%)
Negatividad para APE-1	0 (0%)

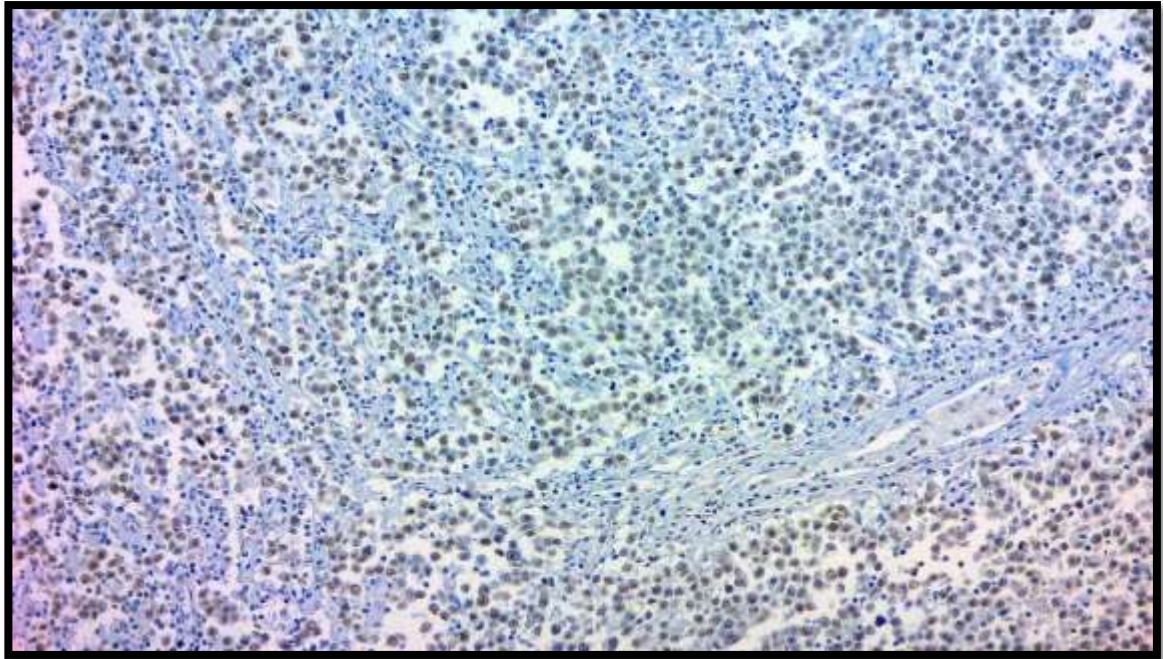


Figura 11.- Positividad Moderada/++ para APE-1 en Seminoma.
Inmunotinción con anticuerpo Anti-APE-1, x100.

TABLA 8

EXPRESION DE APE-1 EN SEMINOMA

Expresión de APE-1 en Seminoma	
Casos como componente único	37
Casos como componente acompañante	24
Total de casos	61
Positividad para APE-1	49 (80.33%)
Fuerte/+++	31 (63.27%)
Moderado/++	17 (34.69%)
Débil/+	1 (2.04%)
Negatividad para APE-1	12 (19.67%)

Se presentaron 48 casos de Carcinoma embrionario, 2 como componente único y 46 como componente acompañante, de los cuales en 23 fue el componente predominante y en 23 el componente secundario. De los 48 casos, hubo

positividad en 10 (20.83%) y negatividad en 38 (79.17%) (Figura 12). De los 10 casos positivos, 3 (30%) presentaron positividad fuerte/+++, 3 (30%) moderado/++ y 4 (40%) débil/+ (Tabla 9).

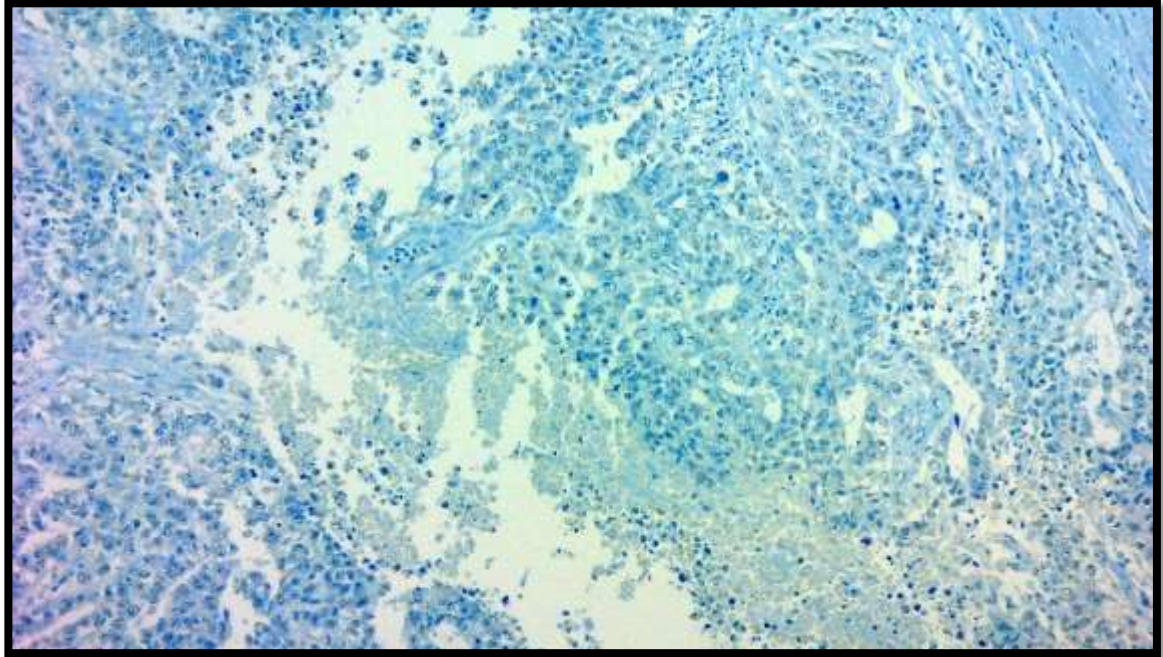


Figura 12.- Negatividad para APE-1 en Carcinoma embrionario. Inmunotinción con anticuerpo Anti-APE-1, x100.

TABLA 9

EXPRESION DE APE-1 EN CARCINOMA EMBRIONARIO

Expresión de APE-1 en Carcinoma embrionario	
Casos como componente único	2
Casos como componente acompañante	46
Total de casos	48
Positividad para APE-1	10 (20.83%)
Fuerte/+++	3 (30%)
Moderado/++	3 (30%)
Débil/+	4 (40%)
Negatividad para APE-1	38 (79.17%)

De los 44 casos de Senos endodérmicos que se presentaron, 1 lo hizo como componente único y 43 como componente acompañante, de los cuales en 12 fue como componente predominante y en 12 como componente secundario. De los 44 casos, hubo positividad en 23 (52.27%) y negatividad en 21 (47.73%) (Figura 13). De los 23 positivos, 4 (17.39%) presentaron positividad fuerte/+++, 11 (47.83%) moderado/++ y 8 (34.78%) débil/+ (Tabla 10).

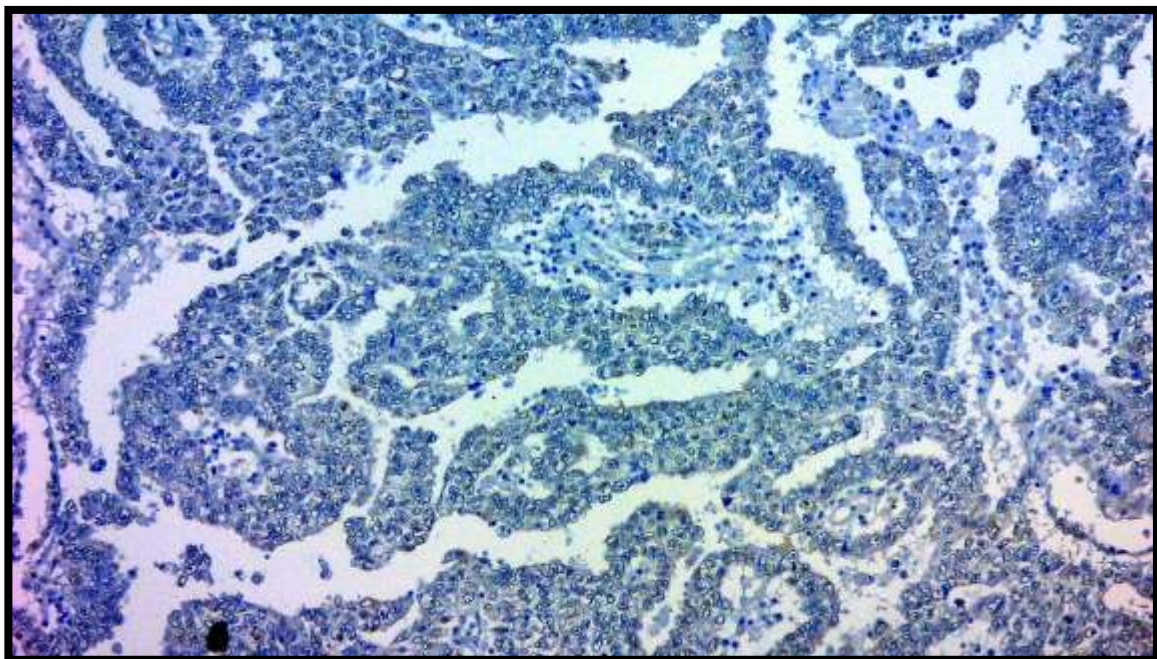


Figura 13.- Negatividad para APE-1 en tumor de senos endodérmicos. Inmunotinción con anticuerpo Anti-APE-1, x100.

TABLA 10

EXPRESION DE APE-1 EN TUMOR DE SENOS ENDODERMICOS

Expresión de APE-1 en Tumor de senos endodérmicos	
Casos como componente único	1
Casos como componente acompañante	43
Total de casos	44
Positividad para APE-1	23 (52.27%)
Fuerte/+++	4 (17.39%)
Moderado/++	11 (47.83%)
Débil/+	8 (34.78%)
Negatividad para APE-1	21 (47.73%)

En los 37 casos de Teratoma, 4 se presentaron como componente único, 33 como componente acompañante, de los cuales en 18 lo hicieron como componente predominante y 15 como componente secundario. De los 37 casos, hubo positividad en 34 (91.89%) y negatividad en 3 (8.11%). De los 34 positivos, 23 (67.65%) presentaron positividad fuerte/+++ (Figura 14), 8 (23.53%) moderado/++ y 3 (8.82%) débil/+ (Tabla 11).

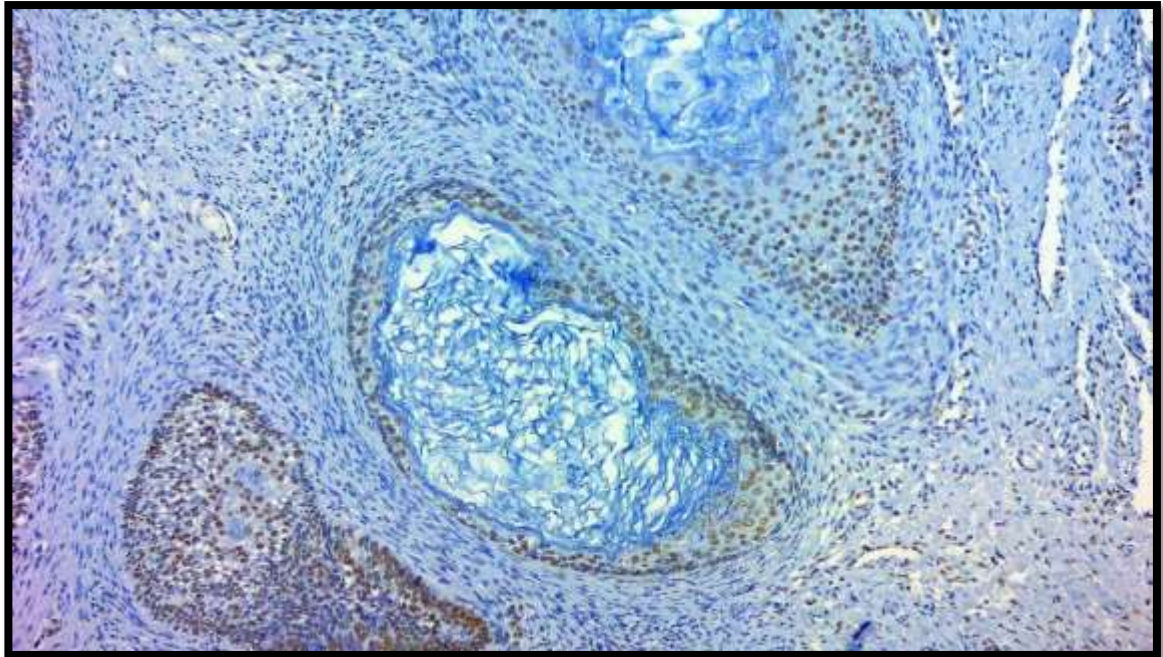


Figura 14.- Positividad Fuerte/+++ para APE-1 en Teratoma. Inmunotinción con anticuerpo Anti-APE-1, x100.

TABLA 11

EXPRESION DE APE-1 EN TERATOMA

Expresión de APE-1 en Teratoma	
Casos como componente único	4
Casos como componente acompañante	33
Total de casos	37
Positividad para APE-1	34 (91.89%)
Fuerte/+++	23(67.65%)
Moderado/++	8 (23.53%)
Débil/+	3 (8.82%)
Negatividad para APE-1	3 (8.82%)

En los 15 casos de Coriocarcinoma, 1 se presentó como componente único y 14 como componente acompañante, de los cuales en 2 fue el componente predominante y en 12 el componente secundario. De los 15 casos hubo

positividad en 10 (66.67%) y negatividad en 5 (33.33%). De los 10 casos positivos 5 (33.33%) presentaron positividad fuerte/+++ (Figura 15), 4 (26.67%) moderado/++ y 1 (6.67%) débil/+ (Tabla 12).

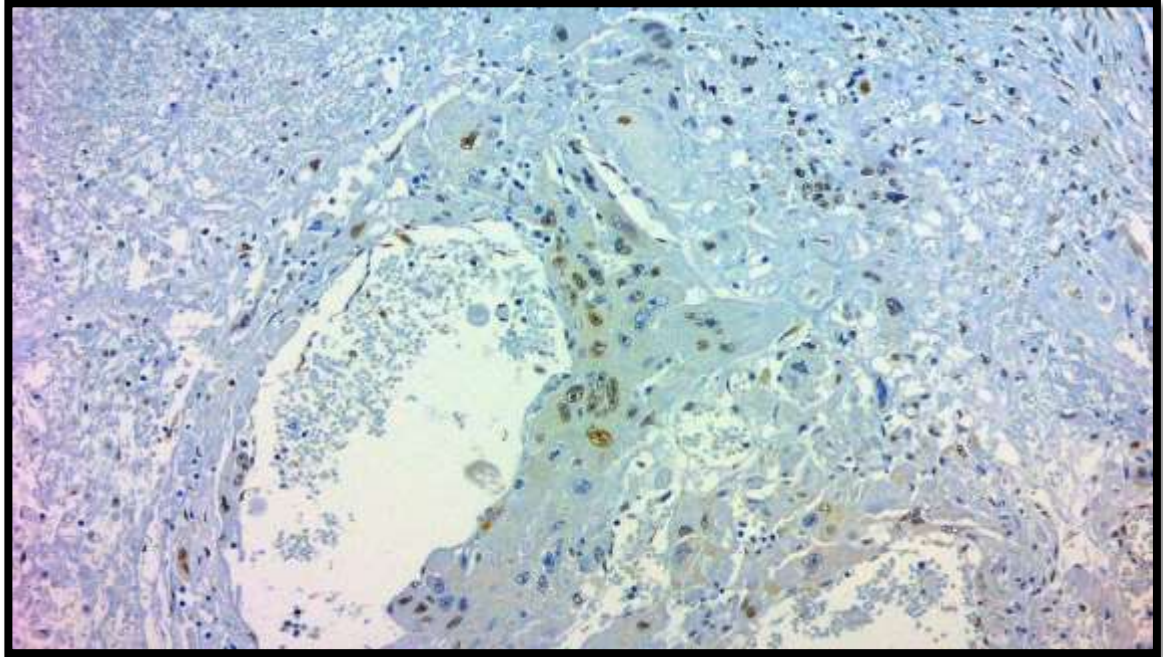


Figura 15.- Positividad Fuerte/+++ para APE-1 en Coriocarcinoma. Inmunotinción con anticuerpo Anti-APE-1, x100.

TABLA 12

EXPRESION DE APE-1 EN CORIOCARCINOMA

Expresión de APE-1 en Coriocarcinoma	
Casos como componente único	1
Casos como componente acompañante	14
Total de casos	15
Positividad para APE-1	10 (66.67%)
Fuerte/+++	5 (50%)
Moderado/++	4 (40%)
Débil/+	1 (10%)
Negatividad para APE-1	5 (33.33%)

Se realizó análisis bivariado con la prueba estadística X^2 de Pearson, con la se obtuvo una diferencia estadísticamente significativa ($p \leq 0.0001$) entre los diversos Tumores de células germinales y Neoplasia intratubular de células germinales y su positividad o negatividad para la expresión de APE-1 (Tabla 13). La relación de expresión de APE-1 con estadio clínico y tamaño tumoral no tuvo un resultado estadísticamente significativo (Tablas 14 y 15).

TABLA 13
REALACIÓN ENTRE EXPRESIÓN DE APE-1 Y LOS DIVERSOS
COMPONENTES TUMORALES

<i>Componente</i>	<i>Positividad para APE-1</i>	<i>Negatividad para APE-1</i>
Neoplasia intratubular de células germinales	60 (100%)	0 (0%)
Seminoma	49 (80.33%)	12 (19.67%)
Carcinoma embrionario	10 (20.83%)	38 (79.17%)
Senos endodérmicos	23 (52.27%)	21 (47.73%)
Teratoma	34 (91.89%)	3 (8.11%)
Coriocarcinoma	10 (66.67%)	5 (33.33%)
<i>Valor de $p \leq 0.0001$</i>		

TABLA 14

**RELACION ENTRE EXPRESION DE APE-1 EN EL COMPONENTE
PREDOMINANTE Y ESTADIO CLINICO**

	<i>Positividad para APE-1 en componente predominante</i>	<i>Negatividad para APE-1 en componente predominante</i>
Estadio 0	7 (6.03%)	0 (0%)
Estadio I	68 (58.62%)	38 (32.77%)
Estadio II	1 (0.86%)	1 (0.86%)
Estadio III	1 (0.86%)	0 (0%)
Estadio IV	0 (0%)	0 (0%)
Valor de p 0.2097		

TABLA 15

RELACION ENTRE EXPRESION DE APE-1 Y TAMAÑO TUMORAL

	<i>Positividad para APE-1 en componente predominante</i>	<i>Negatividad para APE-1 en componente predominante</i>
Tumor de 0-4 cm	20 (18.35%)	11 (10.09%)
Tumor mayor a 4 cm	51 (46.79%)	27 (24.77%)
Valor de p 0.9315		

CAPÍTULO VIII

8. DISCUSIÓN

El APE-1 es una proteína que juega un papel fundamental en la reparación del ADN dañado por agentes alquilantes, especies reactivas de oxígeno o radiación, así como también estimula la actividad de factores de transcripción por medio de su acción reductora por medio de lo cual regula la progresión y promoción carcinogénica. Se ha postulado que la alteración de ambas funciones de APE-1 pudiera ser un blanco molecular para el tratamiento de múltiples neoplasias y es por esto que la expresión de APE-1 ha sido motivo de múltiples estudios.

La expresión de APE-1 se ha estudiado en diversas neoplasias, incluyendo melanoma, cáncer de mama, esófago, estómago, adenomas gástricos y tumores de células germinales. Dichos estudios han utilizado múltiples metodologías para estudiar dicha expresión, entre las que se encuentran Western blot, Inmunofluorescencia e Inmunohistoquímica.

Este estudio es el más grande que se ha realizado en torno a la descripción de la expresión de APE-1 en tumores de células germinales testiculares por medio de Inmunohistoquímica, pues en la literatura, solo existe un antecedente de un trabajo similar, se trata del trabajo de Robertson y colaboradores, quienes estudiaron la expresión de APE-1 en solo 10 casos (4 tumores de senos endodérmicos, 4 teratomas y 2 seminomas), en la totalidad de los cuales reportaron positividad de predominio nuclear, con mayor intensidad en teratoma que en seminoma o senos endodérmicos. Nuestro estudio presenta hallazgos similares a lo descrito por Robertson y colaboradores. En nuestro estudio

también se observó predominantemente tinción nuclear en los diversos tumores de células germinales, así como también coincidimos en que teratoma es el grupo de tumores que presentó positividad con intensidad más alta (solo superado por la neoplasia intratubular de células germinales, la cual no fue estudiada por Robertson y colaboradores). Asimismo la positividad en seminomas, en nuestro trabajo, fue muy frecuente (80.33%) como en lo reportado por Robertson y colaboradores quienes reportaron positividad en ambos casos de seminoma estudiados. Una discrepancia que tenemos con lo reportado por Robertson es en los casos de senos endodérmicos en los cuales se reportó en los 4 casos estudiados, sin embargo en nuestro estudio solo se observó positividad en 52.27% de los casos estudiados. Dicha discrepancia pudiera deberse al limitado número de casos reportados por Robertson y colaboradores. Nuestro estudio a diferencia de la referencia antes mencionada incluyó la totalidad del espectro de tumores de células germinales y la cantidad de casos estudiados fue mucho mayor, lo cual permitió realizar un análisis estadístico y demostrar una diferencia estadísticamente significativa en la expresión de APE-1 entre los diferentes tumores de células germinales.

En lo referente a la relación de expresión de APE-1 con el Estadio clínico no se encontró una diferencia estadísticamente significativa. Esto en primera instancia no sorprende pues la mayoría de los pacientes se presentan en Estadio I, sin embargo analizando la metodología de nuestro trabajo encontramos que hay un sesgo importante derivado de la imposibilidad de recabar datos importantes para determinar con mayor precisión el Estadio clínico de los pacientes como lo son niveles de marcadores tumorales, estatus de ganglios linfáticos y presencia de metástasis a distancia.

El significado y utilidad de la diferencia en expresión que reportamos solo puede especularse en este momento y debe ser solo un escalón que aliente y permita nuevos estudios en este tema en específico. En un posterior estudio podría recabarse información clínica como presencia o ausencia de recurrencia,

refractariedad a tratamiento terapéutico o incluso sobrevida y compararlos con expresión de APE-1.

CAPÍTULO IX

9. CONCLUSIÓN

La mayor parte de los tumores de células germinales en nuestro estudio se presentó en el grupo de edad entre 20 y 29 años y presentó una media de edad de 28.52 años. La mayor parte de los tumores de células germinales fueron mixtos (58.72%), siendo el carcinoma embrionario el componente más reportado y el que más frecuentemente se presentó como componente predominante. De los tumores puros, el seminoma fue el más común (82.22%). Se reportó neoplasia intratubular de células germinales en un 48.62% de los tumores de células germinales. Todos datos consistentes con lo reportado en la literatura mundial.

Se demostró una diferencia estadísticamente significativa para la expresión de APE-1 entre los diversos tumores de células germinales y neoplasia intratubular de células germinales. La neoplasia intratubular de células germinales presentó positividad en la totalidad de los casos, el teratoma en un 91.89%, el seminoma en un 80.33% de los casos, el coriocarcinoma en un 66.67% y el tumor de senos endodérmicos en un 52.27%. Solo el carcinoma embrionario presentó más casos negativos que positivos, presentando una positividad en el 20.83% de los casos. El significado de esta diferencia en expresión, más notoria en el caso del carcinoma embrionario, es incierto, y pudiera teorizarse e investigarse su asociación a peor comportamiento clínico en futuros trabajos. En lo referente a la relación de expresión de APE-1 con el Estadio clínico no se encontró una diferencia estadísticamente significativa probablemente debido al sesgo en la metodología empleada.

Consideramos que los hallazgos encontrados en este estudio son importantes y esperamos que sean un paso que permita el desarrollo de nuevos estudios que traten de esclarecer el significado pronóstico y posiblemente terapéutico que la expresión de APE-1 puede tener, pues el hecho de contar con blancos terapéuticos dirigidos contra APE-1 hacen de vital interés esclarecer el rol que podría jugar la diferencia de expresión demostrada en este trabajo.

CAPÍTULO X

10. BIBLIOGRAFÍA

- [1] Eble JN, Sauter G, Epstein JI, Sesterhenn IA. World Health Organization Classification of Tumours: Pathology and Genetics of Tumours of the Urinary System and Male Genital Organs. Lyon, IARC Press, 2004.
- [2] American Joint Committee on Cancer. AJCC Cancer Staging Manual. 7th edition. New York, Springer, 2010.
- [3] Bostwick DG, Cheng L. Urologic Surgical Pathology. Indianapolis, Saunders, 2014.
- [4] The Surveillance, Epidemiology, and End Results (<http://seer.cancer.gov/statfacts/html/testis.html>)
- [5] Ferlay J, Bray F, Pisani P, Parkin DM. GLOBOCAN 2000: Cancer Incidence, Mortality and Prevalence Worldwide. Lyon, IARC Press, 2001.
- [6] Skakkebaek NE, Berthelsen JG, Muller J. Carcinoma-in-situ of the undescended testis. Urologic Clinics of North America; 9:377-85, 1982.
- [7] Che M, Tamboli P, Ro JY. Bilateral testicular germ cell tumors: twenty-year experience at M.D. Anderson Cancer Center. Cancer; 95: 1228-33, 2003.
- [8] Moller H. Clues to the aetiology of testicular germ cell tumours from descriptive epidemiology. European Urology 23:8-13, 1993.
- [9] Cooper DE, L'Esperance JO, Christmas MS, Auge BK. Testis cancer: a 20-year epidemiological review of the experience at a regional military medical facility. The Journal of Urology; 180:577-82, 2008.
- [10] Jacobsen GK, Barlebo H, Olsen J. Testicular germ cell tumours in Denmark 1976-1980: pathology of 1508 consecutive cases. Acta Radiologica Oncology; 23:239-47, 1984.

- [11] Rustin GJ, Vogelzang NJ, Sleijfer DT, Nisselbaum JN. Consensus statement on circulating tumour markers and staging patients with germ cell tumours. *Progress in clinical and biological research*; 357:277-84, 1990.
- [12] Hunter M, Peschel RE. Testicular seminoma: results of the Yale University experience, 1964-1984. *Cancer*; 64:1608-11, 1989.
- [13] Milosevic MF, Gospodarowicz M, Warde P. Management of testicular seminoma. *Seminars in surgical oncology*; 17:240-9, 1999.
- [14] Valdevenito JP, Gallegos I, Fernández C. Correlation between primary tumor pathologic features and presence of clinical metastasis at diagnosis of testicular seminoma. *Urology*; 70:777-80, 2007.
- [15] Pera MF, Mills J, Parrington JM. Isolation and characterization of a multipotent clone of human embryonal carcinoma cells. *Differentiation*; 42:10-23, 1989.
- [16] Rodriguez PN, Hafez GR, Messing EM. Nonseminomatous germ cell tumor of the testicle: does extensive staging of the primary tumor predict the likelihood of metastatic disease. *The Journal of Urology*; 136:604-8, 1986.
- [17] Javadpour N. The role of biologic tumor markers in testicular cancer. *Cancer*; 45:1755-61, 1980.
- [18] Bosl GJ, Lange PH, Nochomovitz LE. Tumor markers in advanced non-seminomatous testicular cancer. *Cancer*; 47:572-6, 1981.
- [19] Sweeney CL, Hermans BP, Heilman DK. Results and outcome of retroperitoneal lymph node dissection for clinical stage I embryonal carcinoma: predominant testis cancer. *Journal of Clinical Oncology*; 18:358-62, 2000.
- [20] Albers, Siener R, Kliesch S. Risk factors for relapse in clinical stage I nonseminomatous testicular germ cell tumors: results of the German Testicular Cancer Study Group Trial. *Journal of Clinical Oncology*; 21:1505-12, 2003.
- [21] De Bruin MJ, Oosterhof GO, Debruyne FM. Nerve-sparing retroperitoneal lymphadenectomy for low stage testicular cancer. *British Journal of Urology*; 71:336-9, 1993.
- [22] Walsh PC, Gittes RF, Perlmutter AD, Stamey TA. *Campbell's urology*. Philadelphia, Saunders, 1986.

- [23] Kaplan GW, Cromie WC, Kelalis PP. Prepuberal yolk sac testicular tumors: report of the testicular tumor registry. *The Journal of Urology*; 140:1109-12, 1988.
- [24] Pierce GB, Bullock WK, Huntington RW. Yolk sac tumors of the testis. *Cancer*; 25:644-58, 1970.
- [25] Talerman A. Endodermal sinus (yolk sac) tumor elements in testicular germ-cell tumors in adults: comparison of prospective and retrospective studies. *Cancer*; 46:1213-17, 1980.
- [26] Freedman LS, Parkinson MC, Jones WG. Histopathology in the prediction of relapse of patients with stage I nonseminomatous testis tumors. *Lancet*; 2:294-8, 1987.
- [27] Talerman A, Haije WG, Baggerman L. Serum alphafetoprotein (AFP) in patients with germ cell tumors of the gonads and extragonadal sites: correlation between endodermal sinus (yolk sac) tumor and raised serum AFP. *Cancer*; 46:380-5, 1980.
- [28] Loehrer PJ, Williams SD, Einhorn LH. Testicular cancer: the quest continues. *Journal of the National Cancer Institute*, 1988.
- [29] Nseyo UO, Englander LS, Wajsman Z. Histological patterns of treatment failures in testicular germ cell neoplasms. *The Journal of Urology*; 133: 219-20, 1985.
- [30] Hawkins EP, Finegold MJ, Hawkins HK. Nongerminomatous malignant germ cell tumors in children: a review of 89 cases from the Pediatric Oncology Group. *Cancer*; 58: 1579-84, 1986.
- [31] Brown LM, Potters LM, Hoover RN. Testicular cancer in the United States: trends in incidence and mortality. *International Journal of Epidemiology*; 15:164-70, 1986.
- [32] Firminger HI. Atlas of tumor pathology, 2nd series, fascicle 8. Washington DC. Armed Forces Institute of Pathology, 1973.
- [33] Kay R. Prepubertal testicular tumor. *The Journal of Urology*; 150:671-4, 1993.
- [34] Von Hochstetter AR, Hedinger CE. The differential diagnosis of testicular germ cell tumors in theory and practice: a critical analysis of two major systems of classification and review of 389 cases. *Virchows Archiv*; 396:247-77, 1982.

- [35] Ulbright TM. Gonadal teratomas: a review and speculation. *Advances in Anatomic Pathology*; 11:10-23, 2004.
- [36] Mostert M, Rosenber C, Stoop H. Comparative genomic and in situ hybridization of germ cell tumors of the infantile testis. *Laboratory Investigation*; 80:1055-64, 2000.
- [37] Mostofi FK, Sesterhenn IA. Pathology of germ cell tumors of testes. *Progress in Clinical and Biological Research*; 203:1-34, 1985.
- [38] Dixon FJ, Moore RA. Testicular tumors: a clinicopathologic study. *Cancer*; 6:427-54, 1953.
- [39] Fishel ML, Kelley MR. The DNA base excision repair protein Ape1/Ref-1 as a therapeutic and chemopreventive target. *Molecular Aspects of Medicine*; 28:375-395, 2007.
- [40] Evans AR, Limp-Foster M, Kelley MR. Going Ape over Ref-1. *Mutation Research*; 461(2): 83-108, 2000.
- [41] Fleck O, Nielsen O. DNA Repair. *Journal of Cell Science*; 117(pt. 4):515-517, 2004.
- [42] Yang S, Irani K, Heffron SE. Alterations in the expression of the apurinic/apyrimidinic endonuclease-1/redox factor-1 (APE/Ref-1) in human melanoma and identification of the therapeutic potential of resveratrol as an APE/Ref-1 inhibitor. *Molecular Cancer Therapeutics*; 4:1923-35, 2005.
- [43] Curtis CD, Thorngren DL, Nardulli AM. Immunohistochemical analysis of oxidative stress and DNA repair proteins in normal mammary and breast cancer tissues. *BMC Cancer*; 10:9, 2010.
- [44] Futagami S, Hiratsuka T, Shindo T, Horie A, Hamamoto T, Suzuki K, Kusunoki M, Miyake K, Gudis K, Crowe SE, Tsukui T, Sakamoto C. (Expression of apurinic/apyrimidinic endonuclease-1 (APE-1) in H. pylori-associated gastritis, gastric adenoma, and gastric cancer. *Helicobacter*; 13(3):209-18, 2008.
- [45] Song J, Futagami S, Nagoya H, Kawagoe T, Yamawaki H, Kodaka Y, Tatsuguchi A, Gudis K, Wakabayashi T, Yonozawa M, Shimpuku M, Watarai Y, Iwakiri K, Hoshihara Y, Makino H, Miyashita M, Tsuchiya S, Li Yan, Crowe SE, Sakamoto C. Apurinic/apyrimidinic endonuclease-1 (APE-1) is overexpressed via the activation of NF κ B-p65 in MCP-1-positive esophageal squamous cell carcinoma tissue. *Journal of Clinical Biochemistry and Nutrition*; 52 (2): 112-9, 2013.

- [46] Robertson KA, Bullock HA, Xu Y. Altered Expression of Ape1/ref-1 in GermCell Tumors and Overexpression in NT2 Cells Confers Resistance to Bleomycin and Radiation. *Cancer research*; 61: 2220-25, 2001.
- [47] Bobola MS, Finn LS, Ellenbogen RG, Geyer JR, Berger MS, Braga JM, Meade EH, Gross ME, Silber JR. Apurinic/apyrimidinic endonuclease activity is associated with response to radiation and chemotherapy in medulloblastoma and primitive neuroectodermal tumors. *Clinical Cancer Research*; 11 (20): 7405-7414, 2005.
- [48] Jayaraman L, Murthy KGK, Zhu C, Curran T, Xanthoudakis S, Prives C. Identification of redox/repair protein Ref-1 as a potent activator of p53. *Genes & Development*; 11:558-70, 1997.
- [49] Naidu MD, Agarwal R, Pena LA, Cunha L, Mezei M, Shen M, Wilson DM, Lio Y, Sanchez Z, Chaudhary P, Wilson SH, Waring MJ. Lucanthone and Its Derivative Hycanthone Inhibit Apurinic Endonuclease-1 (APE1) by Direct Protein Binding. *PLOS ONE*; 6(9), 2011.

CAPÍTULO XI

11. RESUMEN AUTOBIOGRÁFICO

Abelardo Loya Solis

Candidato para el grado de especialista en Anatomía Patológica

**Tesis: EXPRESIÓN DE APE1/REF-1 EN TUMORES
DE CÉLULAS GERMINALES
TESTICULARES Y NEOPLASIA**

Área de estudio: Anatomía Patológica

Biografía:

Datos personales: Nacido en Chihuahua, Chihuahua el 13 de Marzo de 1985, hijo de Abelardo Loya González y Lilia Elvira Solis Medina.

Educación:

Egresado de la Universidad Autónoma de Chihuahua en 2010, grado obtenido Médico Cirujano y Partero.